

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



DIPLOMOVÁ PRÁCE

***IN VITRO* CITLIVOST POTENCIÁLNĚ PATOGENNÍCH
HUB IZOLOVANÝCH VE FAKULTNÍ NEMOCNICI
HRADEC KRÁLOVÉ K ANTIMYKOTIKŮM
KREVNÍ KULTURY TESTOVANÉ V LETECH 2008–2018**

EVA HEJKRLÍKOVÁ

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. PETR JÍLEK, CSc.

Konzultant: doc. RNDr. VLADIMÍR BUCHTA, CSc.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2020

Poděkování

Ráda bych poděkovala doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc. za cenné rady, pomoc a čas, který mi věnoval, a PharmDr. Petru Jílkovi, CSc. za vedení práce, věcné připomínky a rady.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 4. 5. 2020

Eva Hejkrliková

OBSAH

1.	ABSTRAKT	1
2.	ABSTRACT	3
3.	ÚVOD	5
4.	ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE	7
5.	TEORETICKÁ ČÁST	8
5.1	Houby (Fungi)	8
5.1.1	Obecné vlastnosti	8
5.1.2	Onemocnění vyvolaná houbami	9
5.2	Diagnostika mykotických onemocnění	14
5.2.1	Odběr materiálu	14
5.2.2	Diagnostické metody	15
5.3	Antimykotika	20
5.3.1	Zástupci	20
5.3.2	Rezistence k antimykotikům	23
5.4	In vitro stanovení citlivosti houbových izolátů	25
5.4.1	Diluční metody	26
5.4.2	Difúzní metody	27
5.4.3	Komerční soupravy	27
5.4.4	Nové alternativní metody	29
5.5	Fungémie	30
5.5.1	Původci fungémií	31
5.5.2	Epidemiologická situace	33
5.5.3	Diagnostika	36
5.5.4	Rizikové faktory	38
5.5.5	Management	40
6.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	43
6.1	Metodika	43
6.2	Základní antropometrická data	47

7.	VÝSLEDKY.....	49
7.1	Incidence	49
7.2	Nejčastější diagnózy	50
7.3	Druhové spektrum	51
7.4	Citlivost izolátů k antimykotikům in vitro	54
7.4.1	Minimální inhibiční koncentrace.....	54
7.4.2	Inhibiční zóny	56
7.4.3	Shoda při interpretaci MIC a inhibičních zón	56
7.4.4	Efektivní cut-off hodnoty	58
8.	DISKUSE	60
9.	ZÁVĚR	69
10.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	70
11.	SEZNAM TABULEK	72
12.	SEZNAM GRAFŮ.....	73
13.	POUŽITÁ LITERATURA.....	74

1. ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Autor: Eva Hejkrliková

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Odborný školitel: doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.

Název diplomové práce: *In vitro* citlivost potenciálně patogenních hub izolovaných ve Fakultní nemocnici Hradec Králové k antimykotikům

Podtitul: Krevní kultury testované v letech 2008–2018

Cíl práce: Cílem práce bylo popsat a zhodnotit epidemiologickou situaci fungémie ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) v letech 2008 až 2018, zejména *in vitro* citlivost krevních izolátů k antimykotikům.

Metody: Potřebná data byla získána z laboratorního informačního systému Ústavu klinické mikrobiologie FNHK a zpracována v programu Microsoft Excel.

Výsledky: Od ledna 2008 do prosince 2018 byla fungémie identifikována u 231 pacientů s celkovou incidencí 0,51 případů na 1000 přijetí. Mezi původci převažovala *Candida albicans* (52,8 %) následovaná *C. glabrata* (14,7 %), *C. tropicalis* (8,2 %) a *C. parapsilosis* (6,9 %). Citlivost k echinokandinům určená na základě minimální inhibiční koncentrace byla pro *C. albicans*, *C. tropicalis* a *C. parapsilosis* 100%, ve 2 případech byla *C. glabrata* rezistentní k anidulafunginu a *C. krusei* ke kaspofunginu. *C. albicans* a *C. tropicalis* vykazovaly velmi dobrou citlivost také k azolovým antimykotikům. Objevilo se 6 izolátů *C. glabrata* (17,1 %) a 1 izolát *C. parapsilosis* s rezistencí k flukonazolu, 2 izoláty *C. parapsilosis* a 1 izolát *C. krusei* rezistentní k vorikonazolu. Disková difuzní metoda ukázala srovnatelnou citlivost kandid ke kaspofunginu a flukonazolu, ale vyšší podíl rezistence k vorikonazolu. Všechny kmeny vykazovaly wild type fenotyp k amfotericinu B.

Závěr: Trend incidence fungémie byl během 11 let stabilní. Celkově epidemiologická situace ve FNHK korespondovala s výsledky studií provedených v České republice a dalších evropských zemích.

Klíčová slova: citlivost k antimykotikům, fungémie, kandidémie, incidence, druhová distribuce

2. ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Author: Eva Hejkrliková

Supervisor: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Supervisor specialist: doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.

Title of master's thesis: *In vitro* susceptibility of potentially pathogenic fungi isolated in the University Hospital Hradec Králové to antifungal drugs

Subtitle: Blood cultures tested from 2008 to 2018

Background: The aim of the work was to describe and evaluate epidemiological situation of fungemia in the University Hospital Hradec Králové (FNHK) from 2008 to 2018, focusing on *in vitro* susceptibility of blood isolates to antifungals.

Methods: Required data were obtained from the laboratory information system of the Department of Clinical Microbiology FNHK and processed using Microsoft Excel program.

Results: From January 2008 to December 2018, fungemia was identified in 231 patients with overall incidence of 0.51 cases per 1000 admissions. *Candida albicans* accounted for most cases (52.8 %) followed by *C. glabrata* (14.7 %), *C. tropicalis* (8.2 %) and *C. parapsilosis* (6.9 %). *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. parapsilosis* susceptibility to echinocandins, as determined on the basis of minimum inhibitory concentration, was 100 %, in 2 cases *C. glabrata* was resistant to anidulafungin and *C. krusei* to caspofungin. *C. albicans* and *C. tropicalis* manifested good susceptibility to azole antifungals as well. 6 *C. glabrata* isolates (17.1 %) and 1 *C. parapsilosis* isolate were resistant to fluconazole, 2 *C. parapsilosis* isolates and 1 *C. krusei* isolate were resistant to voriconazole. Disk diffusion method showed corresponding susceptibility of *Candida*

species to caspofungin and fluconazole on the other hand resistance to voriconazole was higher. All strains exhibited wild type phenotype to amphotericin B.

Conclusion: The trend of fungemia incidence was stable over 11 years. In general, epidemiological situation in FNHK corresponded to results of studies carried in the Czech Republic and other European countries.

Key words: antifungal susceptibility, fungemia, candidemia, incidence, species distribution

3. ÚVOD

In vitro stanovení citlivosti infekčních agens k antimikrobním látkám má význam v epidemiologii a je důležitým podkladem pro racionální terapii zejména závažných a život ohrožujících onemocnění. Testováním lze odhalit rezistentní původce nebo rozvoj rezistence v průběhu léčby. Terapie na podkladě výsledků citlivosti také snižuje riziko vzniku rezistentních kmenů (Mallátová et al. 2011; Sanguinetti a Posteraro 2018).

V rámci mykologické diagnostiky získalo stanovení citlivosti na významu od počátku 90. let, v souvislosti s nárůstem frekvence systémových mykóz, novými léčivy a vývojem rezistentních hub následkem jejich používání (Mallátová et al. 2011).

Při nálezů houby v krevní kultuře je diagnostikována fungémie – vážný stav s nespecifickými symptomy a vysokou mortalitou (Sobel 2015), testování citlivosti je proto u pacientů s pozitivní hemokulturou doporučováno jako součást managementu infekce (Koehler et al. 2014; Pappas et al. 2016).

In vitro citlivost k antimykotikům lze stanovit dilučními nebo difúzními metodami. Výsledkem dilučních metod je minimální inhibiční koncentrace (MIC) – nejnižší koncentrace látky zabraňující viditelnému růstu mikroorganismu. Pomocí difúzních metod získáme velikost inhibiční zóny – průměr oblasti, v níž je růst mikroorganismu inhibován. Pro testování oběma typy metod existují komerční soupravy např. Etest (bioMérieux, Francie), nebo Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems, USA). EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) pro Evropu a CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) ve Spojených státech amerických vytvořily na základě sledování distribuce citlivosti v populaci, farmakokinetiky a farmakodynamiky léčiv a klinických studií klinické breakpointy, hraniční hodnoty MIC (u CLSI i inhibičních zón), podle kterých je testovaný kmen zařazen do kategorie citlivý, intermediární (u flukonazolu citlivý v závislosti na dávce), nebo rezistentní. Po úpravě definic z roku 2019 EUCAST rozlišuje kategorie citlivý ve standardním dávkovacím režimu, citlivý při intenzivní expozici a rezistentní (Kahlmeter a EUCAST Steering Committee 2019). Klinické breakpointy nicméně existují jen pro určité mikroorganismy a antimykotika. Pro některé z ostatních jsou stanoveny epidemiologické cut-off hodnoty (ECV) vycházející

z distribuce MIC daného mikroorganismu, které rozdělují organismy na tzv. wild type (běžný fenotyp) a non-wild type (s mutacemi, získanou rezistencí) (Mallátová et al. 2011).

Klinický efekt antimykotik nicméně nezávisí jen na faktorech léčiva (farmakokinetika, dávkování aj.), ale také na vlastnostech mikroorganismu (fenotypové vlastnosti, virulence apod.) a hostitele (stav imunity, celková kondice). Volba terapie by tedy neměla vycházet pouze z *in vitro* stanovení citlivosti (Mallátová et al. 2011).

4. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem práce je popsat epidemiologickou situaci fungemií ve Fakultní nemocnici Hradec Králové v období od 1. ledna 2008 do 31. prosince 2018. Práce je zaměřena na skladbu pacientů s pozitivním hemokultivačním nálezem, dále druhovou distribuci původců fungemií a hodnocení *in vitro* citlivosti krevních izolátů kvasinek k antimykotikům. Výsledky budou porovnány s obdobně zaměřenými publikacemi z České republiky a dalších zemí.

5. TEORETICKÁ ČÁST

5.1 Houby (*Fungi*)

5.1.1 Obecné vlastnosti

Fungi se řadí mezi eukaryotní, heterotrofní organismy. Živí se saprofytický, parazitický, nebo jsou symbionty. Jejich klasifikace původně vycházela z morfologických znaků se základním dělením na mikromycety – houby mikroskopických rozměrů, a makromycety – houby viditelné pouhým okem. Mikroskopické houby se dále rozlišují na kvasinkovité a vláknité (Votava et al. 2003). Metody molekulární genetiky v současnosti umožňují třídění podle evoluční příbuznosti. Říše *Fungi* nyní zahrnuje 6 kmenů: *Basidiomycota*, *Ascomycota*, *Glomeromycota*, *Blastocladiomycota*, *Chytridiomycota* a *Neocallimastigomycota*. Nové poznatky způsobily značné změny v klasifikaci a nomenklatuře tradičních skupin a stále nejsou u konce. V klinické praxi tak může být výhodnější využít starší klasifikaci (Money 2015a).

Buněčná stěna mikromycet obsahuje polysacharidy, typicky chitin, dále také chitosan, glukany a manany, čehož se využívá mimo jiné v diagnostice mykotických onemocnění. V cytoplazmatické membráně mikromycet mají významnou roli steroidní látky, zejména ergosterol. Mikromycety dokážou střídat pohlavní a nepohlavní způsob rozmnožování. Sexuální stádia se označují jako teleomorfy, asexuální anamorfy. Teleomorfa a anamorfa jednoho organismu se mohou výrazně lišit, u všech rodů také zatím nebyla pohlavní stádia objevena (Votava et al. 2003). V současnosti se v praxi uplatňuje pravidlo „Jedna houba, jeden název“ a výše uvedený koncept je považován za zastaralý (Hawksworth et al. 2011).

Mikromycety se vyskytují ve formě hyf – vláknitých mnohojaderných útvarů s přepážkami (septované hyfy), nebo bez přepážek (coenocytické hyfy), nebo jako blastokonidie – jednotlivé oválné, nebo kulaté buňky. Některé kvasinky jako *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida albicans* mohou existovat také ve formě pseudohyf – zřetězených, protažených blastokonidií. Vzájemně propletené hyfy vytváří mycelium. Vegetativní mycelium udržuje houbu v substrátu a slouží k výživě, generativní mycelium má reprodukční funkci – produkuje pohlavní a nepohlavní rozmnožovací struktury – spory.

U mikromycet má větší význam nepohlavní rozmnožování, sexuální rozmnožování medicínsky významných mikromycet, které patří mezi askomycety, probíhá pomocí askospor. Blastokonidie se s výjimkou poltivé kvasinky *Schizosaccharomyces pombe* množí pučením (Money 2015b; Votava et al. 2003; Boddy 2015).

5.1.2 Onemocnění vyvolaná houbami

Řada hub dokáže negativně ovlivnit lidské zdraví. Chrdle et al. (2015) odhadují, že přibližně 176 000 Čechů trpí každoročně závažnou mykotickou infekcí, nejčastější jsou rekurentní vaginitidy a respirační onemocnění na alergickém podkladě. Vedle mykóz houby způsobují také alergie, nebo otravy (mykotoxikózy).

5.1.2.1 Alergie

Houby mohou ohrožovat lidské zdraví jako alergen. V prostředí se vyskytují běžně a k expozici vzduchem přenášených spór dochází prakticky celoročně. Následkem inhalace a ingesce spór a hyf, nebo kontaktem s buňkami hub vzniká imunopatologická reakce I., II., III. nebo IV. typu. Na rozdíl od alergenů jako je pyl mohou houby poškodit dýchací cesty také produkcí enzymů, proteáz, nebo toxinů, případně organismus kolonizovat (Simon-Nobbe et al. 2008).

Nejčastější je reakce I. typu založená na protilátkách IgE. Alergie na plíseň se objevuje u 6–24 % obyvatel, ale až 80 % astmatiků. Manifestuje se jako alergická rhinitida, alergické astma, nebo atopická dermatitida. Nejčastějšími původci jsou *Alternaria*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Candida*, *Cladosporium*, *Epicoccum* a *Phoma* z kmene *Ascomycota* a *Calvatia*, *Coprinus*, *Ganoderma*, *Pleurotus* a *Psilocybe* z kmene *Basidiomycota*. Přibližně u 20 houbových alergenů byla popsána zkřížená reaktivita a ukazuje se, že senzibilizace fungálními alergeny přispívá k autoreaktivitě vůči tělu vlastním antigenům kvůli sdíleným epitopům lidských a houbových proteinů (Simon-Nobbe et al. 2008).

Alergické reakce typu II–IV zahrnují (1) alergickou bronchopulmonální mykózu – perzistentní zánět průdušek vedoucí k bronchiektázii, který je vyvolán růstem *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Curvularia*, *Geotrichum* nebo *Helminthosporium* v lumen bronchů, (2) alergickou sinusitidu – zánět vedlejších nosních dutin s nálezem hyf v hlenu způsobený například plísněmi *Aspergillus*, *Curvularia*, *Alternaria* a *Bipolaris*,

a (3) exogenní alergickou alveolitidu – skupinu granulomatózních plicních onemocnění vzniklých reakcí pozdní přecitlivělosti po opakované inhalaci alergenu *Lentinus edodes*, *Merulius lacrymans* nebo druhů *Aspergillus* a *Penicillium* (Simon-Nobbe et al. 2008).

5.1.2.2 Mykotoxikózy

Nízkomolekulární sekundární metabolity vláknitých hub, které jsou pro člověka toxické už v nízkých koncentracích, se nazývají mykotoxiny. Jejich požití může vyvolat otravu – mykotoxikózu a mycetismus.

Mykotoxiny lze rozlišovat podle oblasti účinku (např. neurotoxiny, imunotoxiny), chemické struktury, biosyntetického původu, houby, která je vytváří, nebo nemocí, jaké způsobují. Projevy mykotoxikóz mohou být akutní i chronické, zahrnují nádorové onemocnění jater, gangrénu, respirační obtíže, křeče, narušení imunity a další. Zdrojem mykotoxinů je kontaminovaná potrava, především obiloviny, ořechy, maso, mléko, vejce nebo samotné houby (mycetismus). Hlavními skupinami mykotoxinů jsou aflatoxiny, námelové alkaloidy, citrinin, fumonisiny, ochratoxiny, 3-nitropropionová kyselina, trichotheceny a zearalenony. Mykotoxiny produkuje mimo jiné řada druhů *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium* nebo *Claviceps purpurea*. Mykotoxikózy představují závažný zdravotní problém hlavně v méně industrializovaných zemích a některých venkovských oblastech (Boddy 2015; Freire a Da Rocha 2017).

5.1.2.3 Mykózy

Mykózy jsou invazivní onemocnění vyvolaná mikromycetami. Aby houba způsobila infekci, s výhodou využívá tři schopnosti: (1) dobře růst při 37 °C, (2) utilizovat zdroje uhlíku a dusíku a vylučovat potřebné prvky a (3) reflektovat podmínky hostitele a přizpůsobit se jim. Z klinického pohledu se mykózy člení na povrchové (superficiální, kožní), podkožní (subkutánní) a systémové (orgánové, viscerální). Systémové mykózy lze dále dělit podle toho, zda je původce oportunním patogenem – infekce propukají především u oslabených jedinců, nebo striktním (obligátním) patogenem – dokáže běžně vyvolat onemocnění i u zdravé populace (Boddy 2015; Stuchlík 2007).

5.1.2.3.1 Povrchové mykózy

Povrchové mykózy zasahují vnější keratinizované vrstvy kůže, nehty, vlasy a chlupy. Onemocnění probíhá bez invaze do živé tkáně, ale houba a její metabolity mohou vyvolat zánětlivou nebo alergickou reakci organismu.

Kvasinky rodu *Malassezia* běžně žijí na lidské kůži, především v oblastech s vyšším výskytem mazových žláz, kde se živí lipidy. Jsou příčinou lupů, přispívají k seboroické dermatitidě a mohou vyvolávat nejčastější superficiální mykózu pityriasis versicolor. Pityriasis versicolor je chronické nezápovědné onemocnění projevující se okrouhlými jasně ohraničenými růžovými až hnědými skvrnami především ve středu hrudníku a po stranách trupu. Představuje převážně kosmetický problém (Boddy 2015; Hamal a Svobodová 2011; Stuchlík 2007; Welsh a Gonzalez 2015).

Rodu *Candida* se v rámci kvasinkovitých organismů připisuje nejvíce mykóz. *Candida albicans* je izolována nejčastěji, relativně běžně se nacházejí také *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* a *C. krusei*. Napadení sliznice ústní dutiny kandidami může hlavně u novorozenců, starých a imunokompromitovaných pacientů vyústit v soor – akutní zánět typický bělavými pseudomembránami. Ostatní formy ústních kandidóz mají nespecifické symptomy. Nejčastěji z nich se objevuje chronická atrofická kandidóza – až u 60 % pacientů využívající zubní náhradu. Vulvovaginální kandidóza – zánět poševní sliznice spojený s erytémem a svěděním – postihne v průběhu života až 75 % žen, pohlavním stykem může být přenesena i na muže a vyvolat balanitidu, nebo balanopostitidu. Kožní kandidová infekce se označuje jako intertrigo, projevuje se mokvavým erytémem v oblastech blízkého kontaktu kůže spojeného s vyšší teplotou a vlhkostí. Kandidy jsou také příčinou 5–10 % infekcí nehtové ploténky, kandidová onychomykóza postihuje především nehty ruky. Nejzávažnější kandidovou infekcí integumentů je chronická mukokutánní kandidóza, která vzniká následkem poruchy aktivace T-lymfocytů (Hamal a Svobodová 2011; Sobel 2015).

Z vláknitých hub způsobují povrchové infekce nejčastěji dermatofyty – příslušníci rodů *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum* a *Arthroderma*, kteří využívají keratin v kůži a jejích adnex. Dermatofytózy se manifestují okrouhlými červenými šupinatými ložisky s čistým středem, podle lokalizace se označují jako tinea pedis (chodidla), tinea cruris (třísla), tinea faciei (obličej) a podobně. Pro postižení nehtu – onychomykózu – je

typická hyperkeratóza, žlutavé zbarvení okraje nehtu a ztráta lesku (Hamal a Svobodová 2011; Stuchlík 2007).

K vzácnějším povrchovým mykotickým onemocněním patří bílá a černá piedra způsobené *Trichosporon* spp. respektive *Piedraria hortae*. Bílá piedra je běžnější v mírném a subtropickém podnebí, vytváří měkké bílé noduly na pubickém ochlupení, kníru, obočí, nebo očních řasách. Černá piedra vyskytující se nejvíce v tropech se projevuje pevnými černými uzlíky na vlasových vláknech kštice (Tan a Hsu 2018).

5.1.2.3.2 Podkožní mykózy

Subkutánní mykózy jsou chronické infekce kůže a podkožní tkáně vzniklé následkem průniku houby do podkoží zpravidla skrz poraněnou kůži. Objevují se zejména v tropických a subtropických oblastech. S nejvyšší frekvencí se vyskytují chromoblastomykózy, mycetomy a sporotrichózy vyvolané askomycetami (Tan a Hsu 2018; Boddy 2015).

5.1.2.3.3 Systémové mykózy způsobené primárními patogeny

Systémové mykózy zpravidla začínají inhalací houby. Ta napadá plíce a následně může krví pronikat do celého těla. Mezi čtyři hlavní systémové mykotické infekce vyvolané primárně dimorfními patogeny patří blastomykóza, histoplazmóza, kokcidiodomykóza a parakokcidiodomykóza. Původci jsou dimorfní houby, při teplotě 25–30 °C existují ve vláknité formě, za tělesné teploty (37 °C) jako kvasinky. Kvasinková forma je patogenní (Boddy 2015).

Blastomykózu navozuje *Blastomyces dermatitidis*. Prvotní zasažení plic většinou probíhá asymptomaticky, případně se projeví jako akutní, nebo chronická pneumonie. Ačkoliv bylo onemocnění zachyceno na několika kontinentech, většina případů pochází z endemických oblastí Severní Ameriky – okolí Velkých jezer a údolí řek Mississippi a Ohio (Sullivan a Nolan III 2015).

Původcem histoplazmózy je *Histoplasma capsulatum*. Vyskytuje se primárně v endemických oblastech Severní, Střední a Jižní Ameriky, případně u cestovatelů z těchto území. Majorita případů probíhá bezpříznakově a je samoúdravná (Wheat a Hage 2015).

Kokcidioidomykóza, známá také jako údolní horečka, je onemocnění vyvolané *Coccidioides immitis* nebo *C. posadasii*. Objevuje se pouze na západní polokouli, s nejvyšší frekvencí v pouštních oblastech USA. Až 60 % pacientů zůstává bez příznaků, u zbytku se objevuje kašel a symptomy podobné chřipce. Infikováni byli miliony lidí, lékařskou péčí však vyžaduje méně než 10 % případů (Boddy 2015; Johnson a Heidari 2015).

Etiologickými agens parakokcidioidomykózy, také endemické mykózy, jsou *Paracoccidioides brasiliensis* a *P. lutzii*. Muži jsou postiženi častěji než ženy (v poměru více než 50:1), pravděpodobně kvůli inhibičnímu vlivu ženského pohlavního hormonu estradiolu na přeměnu z vláknité do kvasinkové formy. Infekce může až léta zůstat latentní. Klinické projevy zahrnují nauzeu, ztrátu hmotnosti, horečku a symptomy spojené se zasažením konkrétních orgánů (Restrepo et al. 2015; Boddy 2015).

5.1.2.3.4 Systémové mykózy způsobené oportunními patogeny

Oportunní infekce se ve zdravé populaci prakticky nevyskytují. Napadají oslabené a imunokompromitované pacienty, např. po transplantaci, rozsáhlých chirurgických výkonech, popáleninách, pacienty trpící AIDS (syndromem získaného selhání imunity) nebo malignitami. Od 80. let narůstá počet jedinců s oslabenou imunitou a s tím i mortalita na oportunní mykózy. Mezi hlavní podmíněné patogeny se řadí kandidy, aspergily, mukormycety (zygomycety), kryptokoky a pneumocysty (Boddy 2015).

Invazivní kandidóza je v rozvinutých zemích nejčastějším houbovým onemocněním hospitalizovaných pacientů. Na celém světě každoročně onemocní více než 250 000 lidí. Zahrnuje kandidémii (blíže v oddílu Fungémie) a hlubokou (tzv. deep-seated) kandidózu, tyto stavy se mohou vyskytovat samostatně, nebo současně. Invazivní kandidóza nemá specifické symptomy – u pacientů se objevují horečky, bolest nebo sepse. Původcem je v polovině případů *Candida albicans*, následovaná tzv. non-*albicans* druhy *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* a *C. tropicalis* (pořadí se liší podle zeměpisné oblasti), jejichž podíl se v poslední době zvyšuje. Infekce je ve většině případů endogenního původu – kandidy se jako komenzálové běžně vyskytují na kůži a sliznicích. I přes léčbu dosahuje úmrtnost na invazivní kandidózu až 40 % (Kullberg a Arendrup 2015; Sobel 2015; Clancy a Nguyen 2013).

Invazivní aspergilózu nejčastěji způsobuje *Aspergillus fumigatus*, s odstupem následovaný druhy *A. flavus*, *A. terreus* a *A. niger*. Přenos nejčastěji probíhá inhalací konidií. Aspergily vyvolávají převážně pulmonální aspergilózy, dále např. endokarditidy nebo sinusitidy. Mortalita vysoce rizikových pacientů přesahuje 50 % (Boucher a Patterson 2015).

V rámci třídy mukormycet jsou nejčastěji izolovány rody *Rhizopus* a *Rhizomucor*. Tyto vláknité houby charakterizují coenotické hyfy, které se větví přibližně v pravém úhlu. Do těla nejčastěji pronikají dýchacími cestami, nebo přes kůži. Mukormycety rychle rostou a dokážou pronikat do stěn cév – jsou angioinvasivní. Vzniklá změť vláken, lymfocytů a krevních destiček může zapříčinit embolii. Mukormykózy postihují zejména diabetiky (Antachopoulos et al. 2015; Votava et al. 2003).

Cryptococcus neoformans je u oslabených osob původcem smrtelných pneumonií, meningitid a septických stavů. 80 % případů je spojeno s infekcí HIV, případně AIDS. Mezi virulentní faktory kryptokoků patří tvorba polysacharidového pouzdra, které je chrání před fagocytózou, a produkce melaninu proti oxidativnímu stresu (Maziarz a Perfect 2015).

Pneumocystis jirovecii, pojmenovaný po českém parazitologovi Otto Jírovcovi, může přivodit pneumocystovou pneumonii, bez léčby fatální stav. Jedná se o nejčastější komplikaci onemocnění AIDS. Typicky se objevuje u osob s alterací CD4+ T-lymfocytů a B-buněk (Gigliotti a Wright 2015; Votava et al. 2003).

5.2 Diagnostika mykotických onemocnění

5.2.1 Odběr materiálu

Základním předpokladem úspěšné diagnostiky houbových onemocnění je správný odběr, skladování a transport biologického materiálu. Obecně se vyžaduje sterilita nástrojů a odběrových souprav. Vzorek musí být odebrán z vhodného místa v dostatečném množství tak, aby nedošlo k vnější kontaminaci, a řádně označen. Odběr vzorku by měl ideálně předcházet léčbě antimykotiky, pokud už terapie probíhá, je třeba tuto skutečnost vzít v úvahu při vyhodnocení nálezu. Vyšetření je vhodné opakovat k ověření výsledků (Hamal a Svobodová 2011).

Krev se standardně odebírá ze žíly po pečlivé dezinfekci místa vpichu. Ke kultivaci se bere 30 ml od dospělého, 1 až 5 ml od dítěte. Následně se krev vstříkne do hemokultivačních lahvíček. Pokud má být krev použita pro sérologické vyšetření, lze použít odběrovou soustavu s vakuovým systémem na 4 až 10 ml, která obsahuje aktivátory koagulace. Plná krev (2 až 10 ml) na genetická vyšetření se umísťuje do zkumavek s antikoagulantem (např. EDTA) (Hamal a Svobodová 2011).

Vzorky kůže se odebírají nejlépe z okraje léze seškrábnutím kožních šupin sterilním skalpelem, nebo stěrem suchý tampónem v případě sekrece, zvlhčeným tampónem u suchých lézí bez šupin. Pro vyšetření vlasu se pinzetou odebírá vzhledově změněný vlas se zaměřením na folikulární část, ze které lze houbovou infekci spíše prokázat. Při postižení nehtu se odebírá podnehtová drť nebo materiál z nehtové ploténky (Welsh a Gonzalez 2015; Hamal a Svobodová 2011).

Pro vyšetření moči se využívá střední proud ranní moči, před odběrem se doporučuje omýt ústí močové trubice kvůli zabránění kontaminaci, dalšími možnostmi jsou cévkování a suprapubická punkce. Stolice se odebírá pomocí určeného kontejneru s lopatičkou a šroubovacím uzávěrem po defekaci do vhodné čisté nádoby. Vzorek sputa se od pacientů s produktivním kašlem získává do širokohrdlé nádoby s kónickým dnem. Pokud pacient nevykašlává, lze provést indukci sputa, nebo bronchoalveolární laváž. Odběry ze sliznic probíhají pomocí suchého tampónu, šroubovitým pohybem se provede stěr z ložiska. Mozkomíšni mok se získává lumbální punkcí, hnis optimálně nasátím do stříkačky. Vzorky tkáně se odebírají z okraje i středu ložiska, jednotlivé části se ukládají odděleně (Hamal a Svobodová 2011).

5.2.2 Diagnostické metody

Metody diagnostiky lze dělit na přímé a nepřímé. V rámci přímé diagnostiky se prokazuje přítomnost houbových buněk anebo jejich částí na rozdíl od nepřímé diagnostiky, která se zaměřuje na antifungální protilátky. Jinou možností je dělení testů podle principu na mikroskopické, kultivační, molekulární a imunologické.

5.2.2.1 Mikroskopie

Mikroskopie zůstává pro mykologii nepostradatelnou technikou. Odhalení houbových elementů přímou mikroskopií může v mnoha případech v krátkém čase poskytnout prvotní informace o probíhající infekci a vytvořit základ pro empirickou terapii, případně vyloučit kontaminaci vzorku. Histopatologické vyšetření vzorků tkáně bývá nutné k potvrzení invazivního onemocnění (Sutton 2015).

Barvené preparáty, jejichž vyhodnocení trvá několik minut, se využívají zejména u materiálu ze sliznic a vnitřního prostředí. Nejčastěji se provádí barvení podle Grama, kterým lze detekovat většinu hub, dalšími technikami jsou barvení dle Giemsky umožňující průkaz *Pneumocystis jirovecii* a dimorfních hub *Histoplasma*, Gram-Weigertovo nebo Grocottovo barvení jako alternativa průkazu cyst *Pneumocystis jirovecii*, barvení pouzder *Cryptococcus neoformans* z cerebrospinální tekutiny čínskou tuší nebo Wrightovo barvení použitelné k detekci *Histoplasma capsulatum*. Až po několika hodinách lze hodnotit louhový preparát vhodný k pozorování vzorků kůže a jejích derivátů, nebo vzorků z biopsie a nekropsie. KOH rozvolní tkáň a umožní lepší viditelnost hub. Louhový preparát lze také barvit. Vyšší citlivosti dosahuje fluorescenční mikroskopie využívající speciální barviva (např. kalkofluorová běloba). Nevýhodami mikroskopie jsou variabilita výsledků v závislosti na reprezentativnosti vzorku a schopnostech a zkušenostech hodnotícího, výsledkem je relativně nízká záchytnost (Buchta et al. 2010; Hamal a Svobodová 2011; Sutton 2015).

5.2.2.2 Kultivace

Kultivace patří mezi základní mikrobiologické techniky. Má význam v detekci, izolaci, identifikaci i stanovení citlivosti. Univerzální kultivační půdou je v mykologii Sabouraudův agar s glukózou (2 %), nebo dextrózou. Mikromycety způsobující infekce v ČR zpravidla nemají vysoké nutriční nároky, ale rostou pomaleji než bakterie, pro materiál z nesterilních míst je proto vhodné použít média podporující růst hub anebo inhibující růst bakterií, např. s přídavkem Sabouraudova bujónu, nebo antibiotik jako chloramfenikol, gentamicin, případně penicilin. Doba potřebná k izolaci se v rámci mikroskopických hub liší. Kvasinky rostou v průměru 24–48 hodin, vláknité houby (původci systémových mykóz) 2–10 dní, dermatofyty až 4 týdny. Kultivace se provádí

při teplotě 36 ± 1 °C, nebo pokojové teplotě (25 °C), v případě podezření na dimorfní houbu souběžně při pokojové i tělesné teplotě. Kultivuje se minimálně týden, pokud je možný záchyt dermatofytů nebo dimorfních hub, tak minimálně 3 týdny. Identifikaci některých druhů na základě typického zbarvení kolonií umožňují chromogenní média jako CHROMagar Candida (Becton, Dickinson and Company USA), nebo chromID Candida (bioMérieux, Francie) (Buchta et al. 2010; Hamal a Svobodová 2011; Sutton 2015).

Krevní kultury zůstávají základem pro detekci hub v krvi. Kultivace odebrané krve probíhá při předepsané teplotě v hemokultivačních lahvičkách s kultivačním médiem a definovanou atmosférou. S výhodou lze využít automatické hemokultivační systémy jako BACTEC (Becton, Dickinson and Company, USA), nebo BacT/Alert (BioMérieux, Francie) (Cuenca-Estrella et al. 2012). Senzor v lahvičce reaguje na přítomnost CO₂ produkovaného houbami ve vzorku zvýšením intenzity fluorescence (BACTEC) (Anonymous 2018a), nebo změnou barvy v důsledku změny pH (BacT/Alert) (Anonymous 2019). Senzitivita krevních kultur je nicméně omezená a například u kvasinek detekce následuje zpravidla po 24 až 72 hodinách inkubace, odborníci proto doporučují doplnit hemokultivaci dalšími imunologickými a molekulárně biologickými technikami jako jsou stanovení (1→3)-β-D-glukanu, mananu a antimananových protilátek, PCR a další (Martin-Loeches et al. 2019; Clancy a Nguyen 2013).

5.2.2.3 Molekulární metody

Význam molekulárně biologických metod narůstá s rozšiřujícím se spektrem hub nalézáných u pacientů v důsledku rostoucí populace imunokompromitovaných osob. Pomocí molekulárních metod lze identifikovat i vzácné druhy, další výhodou je rychlost, včasná diagnóza může v mnoha případech vést ke snížení morbidity a mortality. Nevýhodou molekulárních metod diagnostiky může být mimo jiné nákladnost přístrojového vybavení a náročnost interpretace výsledků (Romanelli a Wickes 2015).

Příprava vzorků hub často vyžaduje více času a složitější postupy než např. v případě bakterií kvůli silné buněčné stěně hub. Částečně rozložené buněčné elementy potom mohou interferovat s dalším průběhem testu. Vytvoření univerzální automa-

tizované metody komplikují rozdílné vlastnosti napříč říší hub a variabilní charakter vzorků vyžadující specifické úpravy (Romanelli a Wickes 2015).

Mezi nejvíce používané techniky analyzující mikrobiální genom patří **polymerázová řetězová reakce (PCR)** – metoda amplifikace DNA na principu denaturace dvouřetězcové DNA následované annealingem s primery a syntézou nových řetězců. Postup se opakovaně provádí v termocykleru. V praxi se využívají i odvozené techniky jako Real-Time PCR umožňující určení počtu kopií, nebo NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) probíhající za konstantní teploty s RNA jako templátem (Romanelli a Wickes 2015).

PNA-FISH (Peptide Nucleic Acid Fluorescent in Situ Hybridization), metoda fluorescenční *in situ* hybridizace, využívá peptidovou nukleovou kyselinu (chemický analog nukleových kyselin) značenou fluorochromem pro navázání na ribozomální RNA, což umožňuje pozorování celých buněk (Romanelli a Wickes 2015).

V současnosti se rychle rozšiřuje metoda **MALDI-TOF** (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight) hmotnostní spektrometrie umožňující identifikaci mikroba v řádu minut. Vzorek je při přípravě smísen s matrix absorbující UV záření. Po vystavení laserovým pulzům uvnitř přístroje dochází k přenosu energie z matrix do vzorku, odpařování a ionizaci molekul. Nabité částice pod vlivem elektrického pole putují k detektoru, sledovaná doba letu vychází z poměru hmotnosti a náboje. Získané spektrum je pro každý druh specifické, porovnáním s knihovnou spekter je identifikován mikroorganismus ve vzorku (Romanelli a Wickes 2015).

T2Candida (T2 Biosystems, USA) je nový nanodiagnostický test umožňující detekci 5 nejčastějších druhů kandid (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* a *C. krusei*) do 3–5 hodin přímo ze vzorku plné krve. Využívá molekulární detekci a magnetickou rezonanci (T2 magnetická rezonance) k identifikaci specifických molekul. Senzitivita a specifita dosahují téměř 100 % (Neely et al. 2013; Clancy et al. 2018).

Metody molekulární biologie mohou dobře doplnit ostatní testy, díky vysoké negativní prediktivní hodnotě jsou využitelné v diferenciální diagnostice, zvláště pokud umožňují kvantifikaci houbové nálože. PCR slouží jako konfirmační metoda průkazu *Pneumocystis jirovecii* (Buchta et al. 2010).

5.2.2.4 Imunologické metody

Pro imunologická vyšetření přichází v úvahu sledování antigenů hub, nebo protilátek vytvořených hostitelem.

Detekce protilátek má v mykologii jen omezený význam, proti houbám se totiž uplatňuje hlavně buněčná imunita. Protilátky proti kandidám se navíc mohou objevit i u zdravých osob s kolonizovanými sliznicemi. Průkaz antifungální protilátek lze využít zejména u alergických onemocnění houbového původu (alergická bronchopulmonální aspergilóza, aspergilom), případně u endemických mykóz (Buchta et al. 2010; Hamal a Svobodová 2011).

(1→3)-β-D-glukan (dále beta-glukan) patří k hlavním složkám buněčné stěny mnoha hub. Princip stanovení vychází ze schopnosti beta-glukanu aktivovat koagulační kaskádu v amébocytech ostrorepa. Jedním z komerčně dostupných testů je např. Fungitell (Associates of Cape Cod, USA). Pomocí vyšetření beta-glukanů lze detekovat houby rodů *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*, *Trichosporon*, *Fusarium*, *Saccharomyces* a další, spektrum naopak nezahrnuje kryptokoky, ani původce mukormykóz (Pfeiffer a Wong 2015).

Ke zjištění přítomnosti *Cryptococcus* spp. se využívá stanovení kapsulárního glukuronoxylomananu pomocí latexové aglutinace, případně ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). V porovnání s kulturačními a histopatologickými metodami jde o velmi rychlý test s dobrou senzitivitou a specifitou při stanovení antigenu v séru i likvoru (Pfeiffer a Wong 2015; Buchta et al. 2010).

V buněčné stěně kandid jsou vedle beta-glukanu významně zastoupeny také manany. Využití vysoce imunogenních mananů v diagnostice invazivní kandidózy komplikovala jejich rychlá clearance ze séra. Problém vyřešila kombinace testování mananů a antimananových protilátek (Guery et al. 2009).

Dalším běžně stanovovaným antigenem je aspergilový galaktomanan vyskytující se opět v buněčné stěně. K detekci se využívá sendvičová ELISA, která má ve srovnání s latexovou aglutinací nižší detekční limit (Pfeiffer a Wong 2015).

5.3 Antimykotika

5.3.1 Zástupci

Antimykotika se tradičně rozdělují na léčiva k terapii systémových mykóz a léčiva k terapii lokálních mykotických onemocnění (s místním, nebo systémovým podáním). Vzhledem k tomu, že řadu látek lze zařadit do obou kategorií, bude dále využito dělení podle skupin léčiv.

5.3.1.1 Polyenová antimykotika

Polyeny patří k nejstarším dosud používaným skupinám antimykotik. Narušují buněčnou stěnu vazbou na steroly, primárně ergosterol, což vede k vytvoření póru, kterým uniká buněčný obsah. Vůči citlivým houbám působí fungicidně. Zástupci polyenových antimykotik jsou nystatin, natamycin a amfotericin B. Pouze amfotericin B lze využít k léčbě systémových infekcí (Drew 2018; Horák 2011).

In vitro amfotericin B účinkuje proti většině druhů kandid, aspergilů, *Mucorales* a dalším houbám. Rezistence je přirozeně vzácná, např. u původců chromoblastomykózy, *Aspergillus terreus*, *Candida lusitanae*, *Scedosporium* a některých druhů *Fusarium*. Kvůli nižší kumulativní nefrotoxicitě a nežádoucím účinkům spojeným s infuzí byl konvenční amfotericin B nahrazen tzv. lipidovými formulacemi – v ČR lipid komplexem, v zahraničí lipozomální formou. Amfotericin B tvořil více než 30 let základ léčby systémových mykóz, v současné době jsou, až na výjimky, preferovány echinokandiny a azolová antimykotika. (Drew 2018; Horák 2011).

5.3.1.2 Azolová antimykotika

Starší azolová antimykotika strukturně vychází z imidazolu. Látky jako mikonazol, ekonazol, klotrimazol nebo bifonazol jsou využitelné v lokální léčbě. Milníkem v systémové terapii bylo na počátku 80. let zavedení prvního perorálního azolového antimykotika – ketokonazolu. Ketokonazol jako vysoce lipofilní slabá báze vykazoval řadu nevhodných vlastností, např. omezenou absorpci za zvýšeného pH v žaludku, dávkově závislou gastrointestinální a jaterní toxicitu, nebo omezenou distribuci do cerebrospinální tekutiny, také nebyl k dispozici v intravenózní lékové formě. S cílem

získat látky s příznivějšími farmakokinetickými vlastnostmi byla vyvinuta nová skupina, tzv. triazoly. V 80. letech byl zaveden flukonazol dobře účinný proti kandidám (výjimku tvoří přirozeně rezistentní *Candida krusei* a některé vzácné kvasinky jako *C. auris*) a kryptokokům, který se rychle stal nejvíce předepisovaným antimykotikem v terapii povrchových a život ohrožujících kvasinkových infekcí, nepůsobí však na oportunní plísně (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucorales* apod.). Mezery ve spektru účinku flukonazolu vyplňuje itrakonazol a zejména širokospektré triazoly nové generace vorikonazol, posakonazol a nejnověji isavukonazol (Horák 2011; Lewis a Fothergill 2015).

Mechanismem účinku azolových antimykotik je inhibice biosyntézy ergosterolu. Následkem selektivní inhibice houbového cytochromu P-450 dochází k zablokování na CYP-450 závislé 14 α -demetylázy potřebné k přeměně lanosterolu. 14 α -metylované steroly kumulované v cytoplazmatické membráně narušují organizaci fosfolipidů a funkci enzymatických systémů vázaných na membránu. Tyto procesy spolu s deficitem ergosterolu vedou k zástavě růstu a dělení, azoly tedy působí fungistaticky. Ovlivňování fungálních cytochromů vzhledem k určité podobnosti se savčími přináší riziko farmakokinetických interakcí a vedlejších účinků. Azoly jsou substráty a inhibitory CYP-450 zejména subtypu 3A4, který má úlohu v metabolismu řady léčiv (Horák 2011; Lewis a Fothergill 2015).

5.3.1.3 Echinokandiny

Nejnovější skupinou antifungálních látek jsou echinokandiny, cyklické polypeptidy uvedené na trh na začátku 21. století. V České republice se používají tři zástupci – kaspofungin, mikafungin a anidulafungin. Echinokandiny jsou indikovány pro léčbu systémových mykóz vyvolaných kvasinkami, podávají se pouze parenterálně. Mezi výhody echinokandinů patří aplikace jednou denně (s využitím nasycovací dávky v případě anidulafunginu a kaspofunginu), přijatelný profil toxicity a nižší interakční potenciál v porovnání s azoly (Horák 2011).

Mechanismus účinku echinokandinů spočívá v inhibici syntézy (1 \rightarrow 3)- β -D-glukanu, polysacharidu spojujícího strukturní komponenty buněčné stěny. Předpokládá se, že cílem působení je enzym (1 \rightarrow 3)- β -D-glukan syntáza. Při nedostatku beta-glukanů dochází k narušení struktury buněčné stěny, osmotické nestabilitě a rozpadu rychle

rostoucích buněk. Míra účinku a spektrum echinokandinů vychází z množství beta-glukanu a aktivity (1→3)-β-D-glukan syntázy jednotlivých druhů hub. Vůči kandidám, jejichž buněčná stěna je na beta-glukany bohatá působí fungicidně. V případě aspergilů se uplatňují na apikálních koncích rostoucích hyf, kde je (1→3)-β-D-glukan syntáza nejvíce exprimována, následně dochází k abnormálnímu růstu, echinokandiny zde působí fungistaticky. Proti kryptokokům, u kterých je množství (1→3)-β-D-glukanů v buněčné stěně nízké, postrádají klinický efekt. Podobně neúčinkují vůči houbám jako *Fusarium*, nebo *Mucorales* (Lewis a Fothergill 2015).

5.3.1.4 Antimetabolity

Skupinu antimetabolitů zastupuje fluorovaný analog pyrimidinu flucytosin účinný proti kvasinkám rodů *Candida* a *Cryptococcus*. Flucytosin je pomocí cytosin permeázy přenesen do buněk hub, kde dochází ke konverzi na 5-fluorouracil, ten inhibuje thymidylát syntázu, klíčový enzym syntézy DNA, a inkorporuje se do RNA s následkem předčasné terminace. Zásadní nedostatek flucytosinu představuje rychlý vznik rezistence při použití v monoterapii, látka je proto vyhrazena pro kombinační léčbu (Lewis a Fothergill 2015; Rozsypal 2008).

5.3.1.5 Allylaminy

Mezi allylaminy patří naftifin a terbinafin. Obě látky se podávají místně, terbinafin lze použít i systémově, ale pouze pro léčbu superficiálních mykóz. Jsou indikovány k léčbě dermatomykóz. Allylaminy inhibují biosyntézu ergosterolu inhibicí skvalen epoxidázy (synonymně skvalen monooxygenázy). Kumulace skvalenu v buněčné membráně a nedostatek ergosterolu vede k zástavě buněčného růstu (Horák 2011; Lewis a Fothergill 2015).

5.3.1.6 Další

Mezi další látky s antifungálním působením využitelné pouze lokálně se řadí amorolfin, jediný zástupce skupiny morfolinů, který také zasahuje do syntézy ergosterolu, nebo ciklopirox, chemicky náležící mezi hydroxypyridony, ovlivňující permeabilitu

cytoplazmatické membrány, čímž narušuje přenos bílkovin do buněk (Hamal a Svobodová 2011).

5.3.2 Rezistence k antimykotikům

Rezistence, schopnost mikroorganismů odolávat působení antimikrobiálních látek, se rozděluje na primární a sekundární. Primární (přirozená) rezistence je přítomna před kontaktem s antimikrobiální látkou, sekundární (získaná) vzniká po expozici antimikrobiální látce (Lewis a Fothergill 2015). V případě houbových organismů je význam rezistence umocněn omezenou paletou antimykotik (Perlin et al. 2017).

Mechanismy rezistence obecně zahrnují (1) snížený transport léčiva do fungálních buněk, nebo zvýšené vylučování antimykotika, (2) alterace vazebného místa, (3) změny v biosyntetických drahách a (4) upregulaci homeostatických mechanismů, které napravují škody způsobené antimykotiky. Často je třeba kombinace více mechanismů, aby se kmen projevil jako rezistentní (Lewis a Fothergill 2015).

5.3.2.1 Azoly

Snížování citlivosti vůči azolovým antimykotikům vychází zejména z rozvíjející se sekundární rezistence a posunu v epidemiologii směrem k přirozeně méně citlivým druhům (Perlin et al. 2017).

Pfaller et al. (2010) na základě stanovení citlivosti kandid diskovou metodou podle CLSI popsali velmi dobrou citlivost k flukonazolu a vorikonazolu u *Candida albicans* (98,0 a 98,5 % citlivých izolátů), *C. parapsilosis* (93,2 a 97,0 % citlivých izolátů) i *C. tropicalis* (91,0 a 89,5 %). Vyšší podíl rezistentních izolátů se objevil u *C. glabrata* – 15,7 % rezistentních k flukonazolu, 10 % k vorikonazolu. U *C. krusei*, která je vůči flukonazolu přirozeně rezistentní, bylo k vorikonazolu rezistentních 7,6 % vzorků. Podobné výsledky uvádí i Prigitano et al. (2016), dále vyhodnotili sníženou citlivost *C. glabrata* k itraconazolu (26,1 % rezistentních izolátů). Tavec et al. (2016) obdobně popsali výbornou citlivost *C. albicans* i *C. tropicalis*, na druhou stranu zjistili menší podíl izolátů *C. parapsilosis* citlivých k flukonazolu a vorikonazolu (89 a 86 %).

Rezistence se objevuje také u aspergilů. Rezistentní kmeny byly izolovány od pacientů azoly dříve léčených i neléčených a z prostředí (Howard a Arendrup 2011).

Van der Linden et al. (2015) detekovali rezistentní izoláty *Aspergillus fumigatus* v řadě evropských zemí. Celkově bylo 3,2 % izolátů určeno jako rezistentní.

Kryptokoky, zejména nejvýznamnější z nich *Cryptococcus neoformans*, byly podle dánské studie Hagen et al. (2016) k azolům citlivé.

U kvasinkovitých hub je nečastějším mechanismem rezistence indukce efluxních pump s následkem snížení koncentrace léčiva v buňce. Byla popsána řada bodových mutací genu sterol 14 α -demetylázy vzniklých po vystavení flukonazolu, substituce aminokyselin může způsobit strukturní změny aktivního místa 14 α -demetylázy a s tím související rezistenci. Mechanismy rezistence kvasinkovitých hub zahrnují také tvorbu biofilmu na epiteliálním povrchu, katétrech, umělých chlopních a podobně, v jehož polymerní matrix může docházet k zachycování léčiva. Vysoká plasticita genomu zejména u *Cryptococcus neoformans* a *Candida albicans* může vést ke ztrátě homozygotnosti, aneuploidii, nebo tvorbě izochromozomů s následkem změn exprese cílové struktury azolů anebo transportérů. Sekundární rezistence vláknitých hub vzniká obdobnými mechanismy (Perlin et al. 2017).

5.3.2.2 Echinokandiny

Rezistence k echinokandinům byla popsána u všech hlavních druhů *Candida*, nejčastěji u *C. glabrata* (Arendrup a Perlin 2014). Cleveland et al. (2015) v USA sledovali vývoj citlivosti kandid v letech 2008–2013 a zaznamenali nárůst rezistence k echinokandinům z 1,2 na 2,9 % a ze 2,0 na 3,5 % ve dvou oblastech. V Evropě zatím zůstává citlivost kandid velmi dobrá (Prigitano et al. 2016; Marcos-Zambrano et al. 2014; Barchiesi et al. 2016).

Mechanismus rezistence vychází z mutace *FKS* genů – genů kódujících katalytickou podjednotku glukán syntázy. U všech druhů kandid může docházet k substituci aminokyselin genu *Fks1*, v případě *C. glabrata* také *Fks2*. Expozice echinokandinům může vyvolávat různé adaptační procesy vedoucí ke zvýšení tolerance léčiva, příkladem je spuštění signální dráhy integrity buněčné stěny nebo zvýšená biosyntéza chitinu. Tyto mechanismy vedou k vysokým hodnotám MIC při stanovení citlivosti *in vitro*, samotné nezpůsobí selhání léčby, mohou však poskytnout čas pro vznik stabilní mutace *FKS* genu (Perlin et al. 2017).

5.3.2.3 Polyeny

Mezi kandidami i kryptokoky je sekundární rezistence k polyenům spíše vzácná. Rezistence aspergilů se během posledních deseti let zvýšila (Perlin et al. 2017). Reichert-Lima et al. (2018) zachytili MIC amfotericinu B $\geq 2 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ u 87 % pacientů s izolovaným *Aspergillus flavus* a 43 % pacientů s nálezem *A. fumigatus*. Kmeny *A. terreus* se považují za přirozeně rezistentní.

Mechanismus rezistence polyenů vychází ze snížení množství ergosterolu v buněčné membráně, ke vzniku rezistence by tedy mohla přispět terapie azoly. U rezistentních kmenů byly popsány mutace ovlivňující syntézu sterolů (Perlin et al. 2017).

5.4 In vitro stanovení citlivosti houbových izolátů

Rostoucí prevalence invazivních mykóz, zavádění nových antimykotik a zprávy o výskytu rezistence během terapie zdůrazňují potřebu stanovení citlivosti *in vitro*, které umožňuje odhalení rezistentních kmenů v populaci, zachycení vznikající rezistence v průběhu léčby a monitorování místní i globální epidemiologické situace (Perkhofer et al. 2010; Mallátová et al. 2011).

Testování citlivosti k antimykotikům dlouho nebylo tak rozvinuté, ani tak často používané jako k antibakteriálním látkám. Za příčinu lze považovat menší výskyt houbových infekcí ve srovnání s bakteriálními a donedávna omezený počet systémových antimykotik. Další problém představovala absence široce přijímané standardizované metodiky. V roce 1992 zveřejnila americká NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), předchůdce CLSI, první návrh dokumentu M27 popisujícího testování citlivosti kvasinek diluční bujónovou metodou, následovaly dokumenty upravující testování vláknitých hub diluční metodou a stanovení citlivosti kvasinek a hyfomycet diskovou difúzní metodou. EUCAST, Evropská komise pro testování antimikrobiální citlivosti založená roku 1997, vytvořila dokumenty popisující testování fermentujících kvasinek (E.Def.7.1) a konidiogenních vláknitých hub (E.Def.9.1) s cílem poskytnout vhodnou, jednoduchou a ekonomicky nenáročnou metodu stanovení citlivosti a zajistit dostatečnou shodu výsledků mezi laboratořemi. Aktuální postupy a doporučení EU-

CAST a CLSI dodnes tvoří základ stanovení citlivosti houbových izolátů (Mallátová et al. 2011; Arendrup et al. 2017).

5.4.1 Diluční metody

Bujónová diluční metoda je technika stanovení MIC, nejnižší koncentrace látky inhibující růst mikroorganismu do daného stupně, která využívá sérii ředění antimykotik v kapalném médiu. Médium je inokulováno standardizovaným množstvím mikroorganismů a předepsanou dobu inkubováno. Jako mikrodiluce se označuje varianta bujónové metody využívající mikrotitrační destičku (Arendrup et al. 2017). CLSI doporučuje také testování makrodiluční metodou (v běžných zkumavkách), nicméně laboratoře využívají spíše mikrodiluční postupy kvůli jejich jednoduššímu provedení (Perkhofer et al. 2010).

Bujónová diluční metoda jako referenční postup testování citlivosti k antimykotikům slouží převážně ke stanovení aktivity nových látek, potvrzení citlivosti v případě nejasných výsledků testů jiného formátu (např. komerčních souprav) a určení citlivosti organismů, pro které nebyly jiné testy validovány, nebo neposkytují spolehlivé výsledky (Arendrup et al. 2017).

Aktuální dokumenty EUCAST upravující diluční metodu jsou E.Def.7.3.1 pro kvasinky a E.Def.9.3.1 pro konidioformní vláknité houby, platí od 15. ledna 2017. Metodika CLSI pro bujónovou metodu v současnosti vychází z dokumentů M38 (3. vydání, 2017) pro vláknité houby a M27 (4. vydání, 2018) pro kvasinky. V principu se evropská a americká metodika shodují, rozdíly zahrnují velikost inokula ($0,5\text{--}2,5 \cdot 10^5$ cfu.ml⁻¹ podle EUCAST a $0,5\text{--}2,5 \cdot 10^3$ cfu.ml⁻¹ na základě dokumentů CLSI), koncentraci glukózy v médiu (0,2 % dle CLSI a 2 % dle EUCAST), tvar dna jamek mikrotitrační destičky (podle CLSI kulaté, dle EUCAST rovné), nebo dobu inkubace. Testy se na základě americké metodiky a E.Def.9.3.1 vyhodnocují vizuálně, v případě E.Def.7.3.1 spektrofotometricky (Mallátová et al. 2011).

Bujónová metoda je kvantitativní. K interpretaci získaných hodnot MIC slouží klinické breakpointy, druhově specifické hraniční hodnoty MIC, určené na základě distribuce MIC v populaci, klinických studií, farmakokinetických a farmakodynamických vlastností léčiv. CLSI i EUCAST definovali klinické breakpointy pro nejvýznamnější druhy

kandid, EUCAST také pro vybrané druhy aspergilů. Pomocí breakpointů se izolát ve vztahu k danému léčivu zařadí do jedné z interpretačních kategorií. CLSI rozlišuje kategorie citlivý, citlivý v závislosti na dávce, intermediární a rezistentní, EUCAST od roku 2019 kategorie citlivý ve standardním dávkovacím režimu, citlivý za zvýšené expozice a rezistentní (Sanguinetti a Posteraro 2018; Mallátová et al. 2011; Perkhofer et al. 2010; Kahlmeter a EUCAST Steering Committee 2019).

Klinické breakpointy existují jen pro určité kombinace houba-léčivo, při jejich absenci lze použít epidemiologické cut-off hodnoty (ECV) vycházející z Gaussova rozdělení MIC v populaci. ECV určují, kde končí normální rozdělení, a rozlišují tak izoláty na wild type (standardní fenotyp) a non-wild type (s mutacemi, sekundární rezistencí). Na rozdíl od breakpointů, ECV neslouží k predikci úspěchu léčby (Lockhart et al. 2017).

5.4.2 Difúzní metody

Difúzní metody jsou rychlé, snadné na provedení a ekonomicky nenáročné. Upravují je dokumenty CLSI M44 (3. vydání, 2018) pro kvasinky a M51 (2010) pro vláknité houby s výjimkou dermatofytů. Houby se kultivují na Mueller-Hinton agaru (u kvasinek s přídavkem glukózy a metylenové modři), na plotny jsou aplikovány disky s předepsaným množstvím antimykotik, která se difúzí uvolňují a potlačují růst citlivých kmenů. Po uplynutí stanovené doby se hodnotí velikost inhibičních zón posuvným měřidlem, případně automatizovaným systémem např. BIOMIC (Giles Scientific, USA). Podle průměru inhibičních zón jsou izoláty rozřazeny do kategorií citlivý, citlivý v závislosti na dávce, intermediární, rezistentní, nebo necitlivý. Difúzní metoda je kvalitativní, dobře využitelná pro screening (Mallátová et al. 2011).

5.4.3 Komerční soupravy

Ke stanovení citlivosti houbových izolátů se v dnešní době široce používají komerční soupravy vycházející ze standardních referenčních metod, které pro rutinní testování nejsou určeny (Posteraro a Sanguinetti 2014).

Obdobou diskové metody je systém **Neo-Sensitabs** (Rosco Diagnostica, Dánsko). Jedná se o kvalitativní metodu, disky jsou nahrazeny tabletami s definovaným obsahem antifungálních látek. Testování se provádí na Mueller-Hinton agaru obohaceném

o 2 % glukózy a metylenovou modř, nebo Shadomy agaru. K dispozici jsou tablety s lokálními i systémovými antimykotiky. Z nejnovější skupiny echinokandinů je dostupný kaspofungin. Byla popsána vysoká míra shody s referenční diskovou difúzní i bujónovou mikrodiluční metodou CLSI (Anonymous 2011; Mallátová et al. 2011).

Velmi rozšířeným kvantitativním testem na principu agarové difúze je **Etest** (bioMérieux, Francie). Etest umožňuje jedno z nejjednodušších stanovení citlivosti. Proužek z inertního materiálu impregnovaný antimykotikem v koncentračním gradientu je umístěn na naočkovanou agarovou plotnu, po inkubaci je viditelná inhibiční zóna ve tvaru kapky až elipsy. V místě průniku proužku a kraje inhibiční zóny se pomocí gradientové stupnice natištěné na proužku odečítá MIC. Pro stanovení citlivosti kvasinek a plísní se na rozdíl od diskových metod doporučuje médium RPMI 1640. K dostání jsou proužky se všemi významnými antimykotiky pro systémové použití (kaspofungin, anidulafungin, mikafungin, flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, vorikonazol, posakonazol, amfotericin B) (Posteraro a Sanguinetti 2014; Mallátová et al. 2011).

Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems, USA) je variací mikrodiluční bujónové metody. V 96jamkové destičce jsou připravena antimykotika v ředění podle CLSI a indikátor Alamar blue (Life Technologies, USA). Do jamek se pipetuje suspenze hub v RPMI médiu s 2 % glukózy. V případě růstu dochází ke změně barvy z modré na růžovou. Po inkubaci se odečítá MIC jako nejnižší koncentrace, při které zůstalo zbarvení modré. Test je jednoduchý a spolehlivý, výsledky lze dobře porovnávat mezi laboratořemi. K výhodám patří i možnost testování kvasinek i vláknitých hub (Posteraro a Sanguinetti 2014; Mallátová et al. 2011).

Automatizovaný systém **VITEK 2** (bioMérieux, Francie) umožňuje vedle druhové identifikace také stanovení citlivosti kvasinek. Karty s různými kombinacemi systémových antimykotik jsou obdobou bujónové mikrodiluční metody, obsahují však jen vybraná ředění antifungálně působících látek. K dispozici jsou látky ze skupiny azolů, polyenů, antimetabolitů i echinokandinů. Vyhodnocení probíhá spektrofotometricky. Nevýhody představují nízký počet testovaných koncentrací antimykotik a nedostatečný růst některých druhů kvasinek v systému VITEK 2 (Mallátová et al. 2011; Posteraro a Sanguinetti 2014).

5.4.4 Nové alternativní metody

Odlišný způsob stanovení citlivosti řady organismů včetně hub k antimikrobiálním látkám nabízí **průtoková cytometrie**. Buňky hub jsou předepsanou dobu inkubovány s antimykotiky v sérii koncentrací. Následuje barvení specifickými fluorescenčními barvivy a měření fluorescence průtokovým cytometrem. Po působení antimykotik rozdílná viabilita buněk ovlivňuje množství přijatého barviva a tím intenzitu fluorescence. Příkladem barviva je propidium jodid, interkalační činidlo, které proniká do buněk se silně poškozenou membránou a váže se na nukleové kyseliny. Průtoková cytometrie hodnotí spíše míru poškození buněk než inhibici růstu (Posteraro a Sanguinetti 2014).

MALDI-TOF MS, významný nástroj klinické mikrobiologie, umožňuje s vysokou přesností a senzitivitou identifikovat bakterie i houby. Další využití se nabízí v oblasti stanovení citlivosti. Marinach et al. (2009) pomocí MALDI-TOF MS testovali citlivost *C. albicans* k flukonazolu, De Carolis et al. (2012) určovali citlivost různých druhů kandid a aspergilů ke kaspofunginu, Saracli et al. (2015) se věnovali citlivosti kvasinek rodu *Candida* k triazolovým antimykotikům a následovaly další publikace. Metoda vychází ze změn v expresi proteinů hub vystavených antimykotikům a následným odlišnostem v hmotnostním spektru. Jako alternativa k MIC se zde využívá MPCC (minimal profile change concentration) – nejnižší koncentrace antimykotika, která způsobí signifikantní změny ve hmotnostním spektru (Posteraro a Sanguinetti 2014).

Technologii **X-Plate** vytvořili Chadwick et al. (2013) jako jednoduchou, nákladově efektivní a rychlou metodu. Umožňuje souběžnou identifikaci a stanovení citlivosti kandid přímo z klinických vzorků. V rámci technologie X-plate je Petriho miska rozdělena na čtvrtiny vyplněné chromogenním médiem CHROMagar Candida (Becton Dickinson and Company, USA) v první části bez přídavku antifungální látky, v dalších třech se zvyšující se koncentrací antimykotika. Barva kolonií slouží k druhové identifikaci, počet kvadrantů s růstem kvasinek k určení citlivosti (Posteraro a Sanguinetti 2014).

Kultivace s využitím **PAO** – porézního oxidu hlinitého – v kombinaci s mikroskopí zrychluje detekci a stanovení citlivosti mikrobů. Mikroorganismy jsou zadržovány na povrchu PAO, zatímco živiny mohou procházet. Technika umožňuje zobrazení vysokého počtu mikrokolonií, tenké proužky PAO lze také snadno přesouvat mezi půdami. Ingham et al. (2012) testovali citlivost kandid kultivovaných na PAO s pomocí flu-

orescenční mikroskopie, výsledky získali v závislosti na použitém antimykotiku za 3,5 až 7 hodin, konvenční testy trvají minimálně 24 hodin (Posteraro a Sanguinetti 2014).

Pomocí **IMC** (izotermální mikrokalorimetrie) lze měřit tepelný tok vytvořený biologickými procesy. Efekt antimikrobiálních látek tak může být hodnocen na základě snížení produkce tepla u mikroorganismů, které jim byly vystaveny, oproti kontrolnímu vzorku. Pro stanovení citlivosti aspergilů Tabin et al. (2012) jako end point vytvořili MHIC (minimal heat inhibitory concentration). MHIC byla v případě amfotericinu B a azolů stanovena jako nejnižší koncentrace snižující celkové teplo vytvořené za 48 hodin o 50 %, u echinokandinů jako nejnižší koncentrace zmenšující pík tepelného toku o 50 %, jelikož echinokandiny nebyly schopné kompletně inhibovat produkci tepla vzhledem k fungistatickému působení vůči aspergilům. IMC je nedestruktivní metoda vyžadující minimální úpravu vzorku.

5.5 Fungémie

Fungémie je definována jako přítomnost houby v krvi. Objevuje se zejména u pacientů s oslabeným imunitním systémem (O'Toole 2017). Jelikož krev patří mezi primárně sterilní materiály, není fungémie nikdy fyziologická. Jako synonymum fungémie se někdy objevuje termín hematogenní mykotická infekce (Ascioglu et al. 2002). Jedná se o život ohrožující stav, úmrtnost se v jednotlivých zemích liší, evropské studie uvádí 30denní mortalitu téměř 40 % (Bassetti et al. 2013; Tortorano et al. 2004).

Podle pracovní skupiny evropských a amerických odborníků na poli mykologie – EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus Group) – je nález kvasinky (např. *Candida*, *Cryptococcus*), nebo kvasinkovité houby (*Trichosporon*) v krevní kultuře kritériem „jistého“ invazivního mykotického onemocnění. V případě vláknitých hub (např. *Fusarium*) musí vedle pozitivní hemokultury pacient vykazovat známky probíhající infekce. Průkaz vláknitých hub rodu *Aspergillus* vždy značí kontaminaci vzorku (De Pauw et al. 2008).

V případě endogenní fungémie je předpokládaným zdrojem hub kolonizovaný trávicí trakt (Tortorano et al. 2004), houby z vnějšího prostředí mohou infikovat krevní

řečiště například při používání intravaskulárních katetrů, případně při parenterální výživě (Ishikane et al. 2016).

5.5.1 Původci fungemií

5.5.1.1 Kandidy

Houby tvoří nezanedbatelnou část původců hematogenních infekcí, v práci autorů Wisplinghoff et al. (2004) byly zodpovědné za 9,5 % epizod těchto infekcí. S nejvyšší frekvencí byly nalézány *Candida* spp., čtvrté nejčastější organismy způsobující infekce krevního řečiště (po koaguláza negativních stafylokocích, *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus* spp.). Nález kandidy v krevní kultuře se označuje jako kandidémie.

Mezi kandidami má dominantní postavení *C. albicans*, které se připisuje přibližně polovina případů kandidémie. Následují *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* a *C. krusei*, nejvýznamnější tzv. non-*albicans* kandidy, jejichž zastoupení se liší podle zeměpisných oblastí. Z dalších non-*albicans* kandid se jako původci fungemií objevují *C. guilliermondii*, *C. pelliculosa*, *C. kefyr*, *C. inconspicua* a jiné. Problémem může být snížená citlivost některých vzácných druhů k antimykotikům. Například *C. guilliermondii* a *C. rugosa* vykazovaly ve studiích sníženou citlivost k flukonazolu, u *C. lusitaniae* se může vyvinout sekundární rezistence k amfotericinu B, u *C. dubliniensis* k flukonazolu (Miceli et al. 2011). *C. auris*, v krvi pacienta poprvé identifikována v Jižní Koreji (Lee et al. 2011), byla popsána jako multirezistentní (rezistentní k flukonazolu a vorikonazolu, část izolátů s vysokými hodnotami MIC amfotericinu B) (Calvo et al. 2016).

5.5.1.2 Další kvasinky a kvasinkovité mikromycety

Jiné houby než kandidy jsou v hemokulturách nalézány vzácně, u imunokompromitovaných osob však mohou vyvolat život ohrožující onemocnění. Celosvětově rozšířené *Trichosporon* spp., zvláště *T. asahii*, jsou druhými nejfrekventnějšími původci fungemií u pacientů s hematologickými malignitami. Fungémie je nejčastějším projevem invazivní infekce některým z druhů *Trichosporon*, může se objevit jako průlomová infekce při terapii antimykotiky, má vysokou mortalitu. Proti *Trichos-*

poron spp. *in vitro* neúčinkuje amfotericin B, flucytosin, ani echinokandiny, azoly by měly být efektivní (Miceli et al. 2011).

Rhodotorula spp., dříve považovány za nepatogenní, se ukázaly jako původci oportunních mykóz. Nejčastěji byly popsány fungémie spojené s přítomností katetru, endokarditidou, nebo meningitidou. *Rhodotorula* spp. nejsou citlivé k flukonazolu, ani kaspofunginu, lékem volby je amfotericin B (Miceli et al. 2011).

Cryptococcus neoformans, ubikviterní patogenní kvasinka, způsobuje život ohrožující meningitidy. Nález *Cr. neoformans* v krvi značí fulminantní formu kryptokokového onemocnění. Mezi rizikové faktory kryptokokové fungémie patří např. AIDS nebo dekompenzovaná cirhóza jater. Diagnostiku komplikuje pomalý růst kryptokoků *in vitro* (Lin et al. 2015; Jean et al. 2002). Tzv. non-*neoformans* kryptokoky jsou saprofytické houby vzácně patogenní pro člověka. Sporadicky se objevují případy obvykle nozokomiálních fungemií způsobených mimo jiné *Cr. laurentii*, *Cr. albidus*, nebo *Cr. liquefaciens*. Data o *in vitro* citlivosti jsou omezená, ukazují vyšší míru rezistence k flukonazolu a flucytosinu než v případě *Cr. neoformans* (Johnson et al. 1998; Takemura et al. 2015).

Dalším vzácným patogenem imunoalterovaných pacientů je *Geotrichum*, zejména *G. capitatum* (dnes *Saprochaete capitata*). Výskyt *G. capitatum* byl zaznamenán především v Evropě, nejvíce v oblasti Středomoří. Pozitivní hemokultury pocházely v 91,7 % případů od pacientů s hematologickým onemocněním, nejčastěji akutní leukemií (Girmenia et al. 2005).

Malassezia, lipofilní kvasinka kolonizující kůži a původce dermatomykóz, může u novorozenců, dětí a imunokompromitovaných vyvolat také invazivní houbová onemocnění (Miceli et al. 2011). Fungémie způsobená *M. furfur* byla u dětí spojována s dlouhodobým podáváním infúzí tukové emulze (Weiss et al. 1991).

U pacientů s oslabeným imunitním systémem byly popsány případy fungémie po podávání probiotik obsahujících kvasinku *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (Roy et al. 2017; Appel-da-Silva et al. 2017). Použití léčivých přípravků obsahujících *S. boulardii* (v České republice přípravek Enterol) je v současnosti u kriticky nemocných a imunokompromitovaných pacientů kontraindikováno (Anonymous 2018b).

5.5.1.3 Vlákňité houby

Vlákňité houby jsou v porovnání s kvasinkami v krvi nalézány málo. Hemokultury obvykle zůstávají negativní při probíhající mukormykóze i aspergilové infekci (Chandrasekar 2009). V případě onemocnění způsobeného *Fusarium* spp. popsali naopak Boutati a Anaissie (1997) pozitivní nález z krevního řečiště u více než poloviny pacientů. Byly popsány jednotlivé případy fungemií vyvolaných dalšími vlákňitými houbami jako *Scedosporium* (Nishimori et al. 2014), *Paecilomyces* (Bellanger et al. 2017), nebo *Aureobasidium* (Mehta et al. 2017) a dalšími.

5.5.2 Epidemiologická situace

5.5.2.1 Česká republika a Slovensko

V České republice a na Slovensku bylo dosud na téma fungémie, případně kandidémie publikováno jen několik prací, další byly prezentovány na konferencích – viz Tabulka 1. Kocmanová et al. (2018) udávají incidenci kandidémie v ČR 0,4 případů na 1000 přijatých pacientů, Drgoňa et al. (2007) na Slovensku zaznamenali 2,57 případů fungémie na 100 000 obyvatel za rok, z toho 2,16 případů kandidémie na 100 000 obyvatel.

Nejčastěji nalezenou mikromycetou v České republice i na Slovensku byla vždy *C. albicans* následovaná *C. parapsilosis*, až v nejnovější práci (Kocmanová et al. 2018) zaujímala druhou pozici *C. glabrata* (Tabulka 1). Krčméry a Kovačičová (2000) v období 1989–1998 pozorovali pokles v zastoupení *C. albicans* (ze 100 % na 50,7 %) a současný nárůst non-*albicans* kandid (z 0 % na 46,3 %). V ČR zůstávalo zastoupení *C. albicans* v posledních 20 letech přibližně stejné – polovina případů (Buchta et al. 1998; Kocmanová et al. 2018). Podíl *C. glabrata* se od 90. let zvyšoval, zastoupení dalších druhů se měnilo bez výrazného trendu, výsledky studií jsou nicméně obtížně srovnatelné z důvodu rozdílné skladby pacientů, používaných postupů a podobně.

Tabulka 1 Nálezů hub v hemokulturách v České republice a na Slovensku

Autoři	Období	Počet izolátů	CA [%]	CG [%]	CP [%]	CT [%]	CK [%]	CSp [%]	Jiné [%]
Buchta et al. (1998)	1995–1996	48	53	9	27	7	2	N	N
Krčméry a Kovačičová (2000) – SR	1989–1998	310	61,6	3,2	9,7	4,5	5,8	8,1	7,1
Hamal et al. (2003) (podle Habera et al. 2008)	2000–2002	1045	46,8	5,5	19,7	15,7	4,8	N	N
Hamal et al. (2007)	2000–2006	1179	50,6	7,6	15,2	13,5	4,6	N	N
Drgoňa et al. (2007) – SR	2005–2007	204	32	14	24	7	3	3	17
Kocmanová et al. (2018)	2012–2015	921	49,7	15,3	11,2	8,9	3,6	N	N

CA – *Candida albicans*

CG – *C. glabrata*

CP – *C. parapsilosis*

CT – *C. tropicalis*

CK – *C. krusei*

CSp – jiné druhy rodu *Candida*

N – nebylo sledováno, uvedeno, nebo nelze určit

SR – Slovensko

Fungemiím v širokém slova smyslu se věnovali slovenští autoři. Krčméry a Kovačičová (2000) zaznamenali 5,7 % kvasinek mimo rod *Candida* a 1,3 % vláknitých hub (všechny rodu *Fusarium*), v práci autorů Drgoňa et al. (2007) tvořily houby jiné než kandidy 17 % izolátů, identifikováno bylo *Acremonium strictum*, *Geotrichum* spp., *Pichia* spp. a *Trichosporon* spp. V ČR zaznamenali Kocmanová et al. (2018) v hemokulturách vedle kandid také *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon inkin*, *T. asahii*, *Kodameae ohmeri* a *Debaryomyces etchellsii*.

5.5.2.2 Evropa

Do 90. let se fungemiím v Evropě nedostávalo příliš pozornosti. Kandidémie byla sledována v několika malých studiích omezených na jednu zemi, anebo zaměřených na specifické skupiny pacientů. V roce 1997 proto ECMM (European Confederation of Medical Mycology) spustila prospektivní studii zabývající se kandidémií, do které se zapojilo 106 institucí ze 7 zemí (Rakousko, Francie, Německo, Velká Británie, Švédsko, Itálie a Španělsko). Výsledky byly publikovány v roce 2004. Incidence se pohybovala

od 0,20 do 0,38 případů na 1000 přijetí. 56 % původců tvořila *C. albicans* následovaná *C. glabrata* (13,6 %) a *C. parapsilosis* (13,3 %), zastoupení *C. glabrata* se zvyšovalo s věkem pacientů, *C. parapsilosis* byla naopak izolována nejvíce u pacientů do 20 let. 30denní mortalita dosahovala 37,9 % (Tortorano et al. 2004).

Podle studií publikovaných v posledních letech bylo spektrum původců kandidémie v Polsku (Nawrot et al. 2013) (50,96 % *C. albicans*, 14,10 % *C. glabrata* a 13,14 % *C. parapsilosis*) velmi podobné nálezům Tortorano et al. (2004), v Belgii Trouvé et al. (2017) popsali vyšší zastoupení *C. glabrata* (27,3 %) a incidenci 0,44 případů na 1000 přijatých pacientů. V jižní Evropě (Itálie a Španělsko) (Bassetti et al. 2013) byla *C. glabrata* až čtvrtou nejčastější příčinou kandidémie po *C. albicans* (58,4 %), *C. parapsilosis* (19,5 %) a *C. tropicalis* (9,3 %), incidence 1,5 případů na 1000 přijetí byla přibližně 5násobně vyšší než v závěrech Tortorano et al. (2004). Situace je poněkud odlišná v severských zemích. Ve Finsku, Norsku a Švédsku více než 63 % izolátů tvoří nálezy *C. albicans*, v Norsku je to dokonce 68 %. Incidence ve Finsku, Norsku a Švédsku dosahuje přibližně 4 případů kandidémie na 100 000 obyvatel. V Dánsku byla zaznamenána výrazně vyšší incidence (10 případů na 100 000 obyvatel) a menší podíl *C. albicans* (51,6 %). Jako možné příčiny odlišností mezi zeměmi severní Evropy byly popsány rozdíly v incidenci hematologických malignit a míře užívání některých antibiotik (metronidazol, ciprofloxacin, piperacilin/tazobaktam, kolistin aj.) s následným ovlivněním střevní mikrobioty a možným imunomodulačním efektem (Hesstvedt et al. 2017; 2015).

Fungémiím způsobeným nejen kvasinkami rodu *Candida* se v Dánsku věnovali Arendrup et al. (2011). Fungémie se objevovala s celkovou incidencí 0,5 případů na 1000 přijatých pacientů, věkově specifická incidence byla nejvyšší ve věku 70–80 let (53,2/100 000 osob). *C. albicans* tvořila 53,1 % nálezů, non-*albicans* kandidy 44,8 % a jiné houby 2,1 %, jednalo se o *S. cerevisiae*, *Cr. neoformans*, *Fusarium solani* a *Rhodotorula* sp. Ve Švédské observační studii autorů Klingspor et al. (2018) bylo spektrum původců fungémie obdobné – 54,7 % *C. albicans*, 44,7 % non-*albicans* a 0,6 % dalších hub (*Cr. neoformans*, *Fusarium oxysporum* a *Saccharomyces cerevisiae*). Incidence dosáhla 4,7 případů na 100 000 obyvatel za rok. V Polsku byly ohlášeny nálezy *Cryptococcus* sp., *Cr. neoformans*, *Geotrichum capitatum*, *Fusarium incarnatum*

a *Aspergillus fumigatus* (Nawrot et al. 2013), Bretagne et al. (2017) ve francouzské studii zaměřené na fungémie vyvolané neobvyklými původci vedle řady výše zmíněných zachytili také druhy *Yarrowia lipolytica*, nebo *Malassezia pachydermatis*.

5.5.2.3 Další oblasti

Ve Spojených státech amerických je pokles v zastoupení non-*albicans* kandid ještě výraznější než v Evropě. V práci autorů Cleveland et al. (2015) tvořil podíl *C. albicans* 36 %, druhá nejčastější byla *C. glabrata* (27 %). Khatib et al. (2016) identifikovali 43,3 % izolátů *C. albicans* následovaných 28,0 % *C. glabrata*. 30denní úmrtnost dosahovala 43,3 %.

V Brazílii (Doi et al. 2016) byla *C. glabrata* podobně jako v jižní Evropě (Bassetti et al. 2013) až čtvrtou nejčastější příčinou kandidémie. *C. albicans* v Brazílii tvořila přibližně třetinu (34,3 %) izolátů, následovala *C. parapsilosis* (24,1 %) a *C. tropicalis* (15,3 %). Vysokou hrubou mortalitu (72,2 %) Doi et al. vysvětlují závažnými komorbidity, pozdní diagnózou, nebo suboptimálním managementem kandidémie.

Obdobné spektrum kandid jako Doi et al. (2016) popsali čínští autoři Lin et al. (2018) a Li et al. (2016). *C. albicans* byla zastoupena 37,3 % respektive 38,9 %, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* tvořily více než pětinu izolátů (24,1 % a 23,2 % *C. parapsilosis*, 22,8 % a 20,5 % *C. tropicalis*). Oproti tomu v Japonsku (Ishikane et al. 2016) byla *C. glabrata* druhou nejčastější příčinou kandidémie (25,6 %), *C. albicans* měla mezi původci opět dominantní postavení (44,3 %). Incidence v japonské nemocnici dosáhla 1,74 případů kandidémie na 1000 přijatých pacientů s 30denní mortalitou 26,9 %.

5.5.3 Diagnostika

Zlatým standardem diagnostiky fungémie jsou hemokultury. ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) při podezření na kandidémii doporučuje denně odebírat krev, celkový objem závisí na věku pacienta. V sadě krevních kultur u dospělých má být 60 ml krve rozplněno po 10 ml do 3 aerobních a 3 anaerobních hemokultivačních lahvíček, ty kultivovány alespoň 5 dní (Cuenca-Estrella et al. 2012). Usnadnění testů přinesly automatické hemokultivační systémy jako BACTEC

a BacT/Alert. Pro systém BACTEC existují i mykologické hemokultivační lahvičky se selektivním médiem pro kvasinky a houby. Datcu et al. (2017) popsali rychlejší detekci a vyšší detekční poměr po přidání mykologické lahvičky k aerobní a anaerobní, při podezření na fungémii proto doporučují použít všechny 3 typy hemokultivačních lahviček.

Pfeiffer et al. (2011) zjistili při první pozitivní hemokultuře medián „koncentrace“ kandid v krvi 1 CFU.ml^{-1} , modus $0,1 \text{ CFU.ml}^{-1}$. Nálož 1 CFU.ml^{-1} u typického dospělého odpovídá přibližně $5,6 \cdot 10^3 \text{ CFU}$ v celkovém objemu krve, pro kultivaci se nicméně odebírá jen malá část a negativní hemokultura tak může být vedle absence životaschopných kvasinek důsledkem nižšího než detekovatelného množství ve vzorku, nebo přerušovaného uvolňování viabilních kvasinek do krevního řečiště (Clancy a Nguyen 2013). Při dodržení doporučených postupů jsou kvasinky rodu *Candida* z krevních kultur detekovány se senzitivitou 50-75 % v závislosti na izolovaném druhu, použitém médiu a hemokultivačním systému, nižší senzitivita byla popsána u neutropeniků a při probíhající antimykotické terapii (Cuenca-Estrella et al. 2012).

Krevní kultury neumožňují přesnou kvantifikaci zátěže houbami, mezi nevýhody patří také časová náročnost. V práci autorů Lai et al. (2012) byl pro kandidy, nejčastější původce fungémií, čas od začátku inkubace do signálu hemokultivačního systému v průměru $25,9 \pm 24,9 \text{ h}$, pro *C. albicans* $34,2 \pm 25,1 \text{ h}$, u *C. glabrata* trvala inkubace podstatně déle ($56,5 \pm 25,5 \text{ h}$). U jiných hub – například kryptokoků – může kultivace trvat až 4 týdny (Maziarz a Perfect 2015).

Podle ESCMID je při riziku přítomnosti kandidémie třeba provést hemokultivaci vždy, když je to možné. Vzhledem k časové náročnosti a nižší senzitivě krevních kultur doporučují doplnit diagnostiku stanovením mananů a antimananových protilátek se senzitivitou okolo 80 % a specifitou přibližně 85 % a stanovením (1→3)-β-D-glukanu, panfungálního antigenu, se senzitivitou přesahující 65 % a specifitou více než 80 %. Testování dalších protilátek, ani použití PCR nebylo pro nedostatek dat doporučeno (Cuenca-Estrella et al. 2012). Martin-Loeches et al. (2019) řadí v diagnostice invazivní kandidózy nekultivační metody – stanovení (1→3)-β-D-glukanu, mananů a antimananových protilátek, kandidových protilátek i techniky založené na PCR a magnetické

rezonanci do kategorie slabě doporučené s nízkou kvalitou důkazů (výjimkou je stanovení beta-glukanů – střední kvalita důkazů).

5.5.4 Rizikové faktory

Ačkoliv může fungémie teoreticky postihnout jakéhokoliv pacienta, u určitých skupin a při některých stavech se objevuje s vyšší frekvencí. Hlavní rizikové faktory kandidémie shrnuje Tabulka 2, odpovídají předpokládaným cestám vstupu hub do krevního řečiště z trávicího traktu nebo z vnějšího prostředí při narušení integrity kůže a sliznic. Širokospektrá antibiotika mohou vést ke změnám ve složení střevní mikrobioty, redukce množství střevních bakterií vytvoří prostor pro růst a množení mikromycet. K dalším rizikovým faktorům patří oslabení imunitního systému vzniklé z různých příčin (Bassetti et al. 2010).

Tabulka 2 Rizikové faktory kandidémie

Populace	Rizikový faktor
Všichni pacienti	předchozí operace v břišní oblasti
	intravaskulární katetr
	parenterální výživa
	užívání širokospektrých antibiotik
	imunosuprese (vč. terapie kortikosteroidy)
	akutní selhání ledvin
	diabetes mellitus
	transplantace
	hemodialýza
	pankreatitida
Pacienti hospitalizovaní na JIP	prodloužený pobyt na JIP
	kolonizace kvasinkami rodu <i>Candida</i> , hlavně vícečetná
	vysoké APACHE II skóre
	nízká porodní váha (novorozenecká JIP)

Zdroj: Bassetti et al. (2010)

JIP – jednotka intenzivní péče

APACHE II skóre – Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skóre; klasifikační systém závažnosti onemocnění na jednotkách intenzivní péče

Byly popsány i druhově specifické rizikové faktory. Neutropenie a transplantace kostní dřeně predisponují pacienta spíše k fungémii způsobené *C. tropicalis*, nebo *C. krusei*. Infekce *C. krusei* byla dále popsána při užívání flukonazolu podobně jako u *C. glabrata*. Pro vznik kandidémie vyvolané *C. glabrata* jsou také rizikové operace, přítomnost žilního katetru, maligní onemocnění a vysoký věk. K hematogenní infekci *C. parapsilosis* predisponují přítomnost žilního katetru, parenterální výživa a hyperalimentace, rizikovou skupinou jsou novorozenci (Bassetti et al. 2010).

5.5.4.1 Modely predikce rizika

Vzhledem k závažnosti a nespecifickým symptomům fungémie by byl spolehlivý nástroj k určení pacientů ve vysokém riziku velmi užitečný. Vzniklo několik modelů s vysokou specifitou, které však mohou být obtížně aplikovatelné v jiných nemocnicích, potažmo zemích, než byly vytvořeny. Selektují pacienty s vyšší pravděpodobností rozvoje onemocnění a ty, u kterých by bylo vhodné provést další testy, čímž zvyšují pozitivní prediktivní hodnotu těchto testů (Martin-Loeches et al. 2019).

Švýcarská skupina Pittet et al. (1994) sledovala souvislost kolonizace kandidami s následným propuknutím infekce u kriticky nemocných chirurgických pacientů. Vytvořili kolonizační index – poměr počtu oblastí těla kolonizovaných stejným kmenem a počtu testovaných částí těla. Infekce se projevila u pacientů s kolonizačním indexem $\geq 0,5$, v případě upraveného kolonizačního indexu (corrected colonization index), který reflektuje i denzitu *Candida* spp. tvořila hranici hodnota 0,4.

Candida skóre, bodovací systém autorů León et al. (2006) vytvořený na chirurgických jednotkách intenzivní péče, určuje riziko kandidové infekce na základě několika faktorů. Jedním bodem (po zaokrouhlení) je hodnocena přítomnost vícečetné kolonizace, parenterální výživy, nebo operace, dvěma body závažná seps. V případě *Candida* skóre (součtu bodů) $> 2,5$ je pravděpodobnost propuknutí infekce 7,75násobně vyšší než u skóre pod 2,5. Pacienti s vysokým *Candida* skóre mohou profitovat z časné antimykotické léčby.

Guillamet et al. (2015) se zabývali predikcí kandidémie u pacientů se závažnou sepsí a septickým šokem. Výsledkem jejich práce byl také bodovací systém. Dvěma body jsou ohodnoceny léčba antibiotiky v předchozích 30 dnech, centrální žilní katetr,

přijetí z domu s pečovatelskou službou a parenterální výživa. Jeden bod se přičítá při transferu z místa mimo nemocnici (ne u domů s pečovatelskou službou) nebo mechanické ventilaci. Šest bodů se odečte, pokud jsou předpokládaným zdrojem sepse, nebo septického šoku plíce. Při hraniční hodnotě 3 bylo ve studii úspěšně zachyceno 87,6 % případů kandidémie.

Predikci rizika kandidémie u pacientů bez neutropenie umístěných na interních odděleních se věnovali Falcone et al. (2017). Do svého bodovacího systému vytvořeného na základě italské multicentrické studie zařadili sepsi, případně septický šok (2,5 bodu); nedávnou infekci *C. difficile* a diabetes mellitus (po 2 bodech); celkovou parenterální výživu, chronickou obstrukční plicní nemoc, souběžnou terapii glykopeptidovými antibiotiky a přítomnost periferně zaváděného centrálního katetru (po 1,5 bodech); předcházející terapii antibiotiky (1 bod) a imunosupresivní léčbu (0,5 bodu). Při stanovené hranici 3 bodů (prevalence kandidémie 66,4 % při skóre > 3) dosáhli senzitivity 87 % a specifity 83 %.

ESICM/ESCMID (European Society of Intensive Care Medicine and European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) v publikaci zaměřené na invazivní kandidózu u kriticky nemocných doporučuje (silné doporučení, nízká kvalita důkazů) používat modely predikce rizika pro jejich jednoduchost a vysokou negativní hodnotu k identifikaci vysoce rizikových pacientů (Martin-Loeches et al. 2019).

5.5.5 Management

Vzhledem k závažnosti onemocnění krevního řečiště houbového původu vytvořilo několik organizací doporučení, jak v případě podezření, případně prokázané infekce postupovat. Publikované práce byly zaměřeny především na kandidémii a invazivní kandidózu.

Podle doporučení ESCMID pro management kandidových onemocnění mělo profylaktické podávání flukonazolu s cílem předejít vzniku invazivní kandidózy střední sílu doporučení pouze u pacientů po nedávném chirurgickém zákroku v oblasti břicha s rekurentními perforacemi gastrointestinálního traktu, nebo anastomotickými úniky. Empirická terapie (podávání antimykotik rizikovým pacientům s perzistující horečkou bez mikrobiologických známek infekce) i preemptivní léčba (podávání antimykotik pa-

cientům s mikrobiologickými známkami kandidózy bez průkazu invazivní infekce) obecně nebyly doporučeny, u vybraných pacientů hospitalizovaných na JIP se doporučovaly jen slabě. Při průkazu kandid v hemokultuře bylo jako první volba doporučeno použití echinokandinu (bez rozdílu mezi zástupci mikafunginem, anidulafunginem a kaspofunginem) s výjimkou infekce *C. parapsilosis*, kde by kvůli nižší citlivosti k echinokandinům mohl být výhodnější flukonazol. Střední doporučení bylo vydáno pro lipozomální amfotericin B a vorikonazol, slabé pro flukonazol. ESCMID navrhla provádět minimálně jednu hemokultivaci denně do negativního výsledku – znaku odeznění kandidémie. V případech, kdy kandidová infekce nezasáhla vnitřní orgány, bylo doporučeno pokračovat v léčbě ještě 14 dní po první negativní krevní kultuře. Po 10 dnech intravenózní terapie by měl být zvážěn přechod na perorální léčbu. K vyloučení zasažení orgánů mykotickou infekcí ESCMID doporučila transezofageální echokardiografii a fundoskopii. V rámci nefarmakologické léčby bylo silně doporučeno odstranění žilních katetrů. Pokud by vyjmutí katetru nebylo možné, preferovala se terapie echinokandiny, nebo lipidovou formou amfotericinu B, které působí proti biofilmu (Cornely et al. 2012).

ECIL (The European Conference on Infections in Leukemia), evropská konference zabývající se infekcemi u pacientů s leukémií, v tzv. ECIL-6 postupech pro léčbu kandidémie v první linii stejně jako ESCMID silně doporučila echinokandiny, podpořila také odstranění katetrů, pokud ho lze provést (Tissot et al. 2017).

Doporučení IDSA (Infectious Diseases Society of America), americké společnosti zabývající se infekčními nemocemi, pro léčbu kandidémie se ohledně iniciální terapie echinokandiny, trvání léčby a přístupu ke katetrům shodují s výše popsány. IDSA dále navrhla stanovovat citlivost všech relevantních izolátů kandid k azolům a zvážit testování citlivost k echinokandinům, pokud jimi byl pacient dříve léčen, nebo pokud byl původce identifikován jako *C. glabrata*, nebo *C. parapsilosis*. Silné doporučení se střední kvalitou důkazů bylo vydáno pro přechod z echinokandinu na flukonazol u klinicky stabilizovaných pacientů, pokud je původce k flukonazolu citlivý a hemokultivace opakovaně negativní. U všech pacientů bez neutropenie IDSA navrhla do týdne po diagnóze kandidémie provést oftalmologické vyšetření k vyloučení kandidózy oka (Pappas et al. 2016).

V případě nálezů jiných mikromycet než kandid je třeba management upravit kvůli odlišnostem ve vlastnostech jednotlivých rodů a druhů (např. citlivost k antimykotikům). V léčbě fungémie způsobené *Cryptococcus* spp. IDSA doporučila (střední síla doporučení, nízká kvalita důkazů) stejný postup jako u kryptokokového onemocnění centrální nervové soustavy, tedy podávání kombinace amfotericinu B a flucytosinu v rámci indukční a konsolidační fáze terapie, flukonazol pro udržovací, případně profylaktickou léčbu (Perfect et al. 2010).

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Metodika

Diplomová práce retrospektivně vyhodnocuje *in vitro* citlivost houbových izolátů z krevních kultur. Zařazeny byly vzorky získané od pacientů ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) od ledna 2008 do prosince 2018.

Výchozí data jsme získali z laboratorního informačního systému Ústavu klinické mikrobiologie FNHK pomocí vyhledávání mykologicky pozitivních nálezů z krve ve stanoveném období. Data byla anonymizována a dále zpracována v programu Microsoft Excel. Sledovali jsme typ hemokultivace (aerobní, anaerobní, mykologická, nebo dětská), datum odběru krve, věk, pohlaví, oddělení hospitalizace a diagnózu pacientů dle MKN-10 (10. revize mezinárodní klasifikace nemocí Světové zdravotnické organizace), druh izolované houby a její citlivost k antimykotikům.

Statistické hodnocení jsme prováděli pomocí webových kalkulačků Social Science Statistics. Pro posouzení statistické závislosti druhu houby a typu oddělení, nebo pohlaví jsme použili Fisherův exaktní test (Social Science Statistics 2020a), pro závislost druhu houby na věku pacienta Mann-Whitney U test (Social Science Statistics 2020b). Za signifikantní byly považovány p-hodnoty nižší než 0,05.

Druhá identifikace byla provedena zaměstnanci FNHK v závislosti na aktuálně používaných a dostupných metodách pomocí morfologických a biochemických technik, anebo automatického systému VITEK 2 (BioMerieux, Francie) anebo hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS (Bruker, USA). *In vitro* stanovení citlivosti probíhalo mikrodiluční bujónovou metodou pomocí soupravy Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems, USA) nebo difúzní metodou s využitím tablet NEO-SENSITABS (Rosco Diagnostica, Dánsko) anebo antimykotických disků ITEST Plus (Česká republika) anebo proužku Etest (AB Biodisk, Švédsko) po 24 hodinách inkubace. Použitá antimykotika zahrnovala anidulafungin, mikafungin, kaspofungin, flukonazol, posakonazol, vorikonazol, itrakonazol, isavukonazol, amfotericin B a flucytosin. Hodnocení citlivosti se řídilo podle metodiky CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), k určení kategorie citlivosti byl využit dokument M60 (CLSI 2017), k rozlišení wild type a non-wild type kmenů doku-

ment M59 (CLSI 2018). Použité interpretační breakpointy shrnují Tabulka 3 a Tabulka 4, využití ECV Tabulka 5.

Při opakovaném nálezů stejného druhu houby u jednoho pacienta byl do výsledků zařazen první izolát, pokud není uvedeno jinak. Z izolátů, u kterých byla stejnou metodou opakovaně stanovena citlivostí vůči antimykotikům, jsme vybrali test zahrnující vyšší počet léčiv, v případě shody první stanovení.

Tabulka 3 Klinické breakpointy minimální inhibiční koncentrace

Antimykotikum	Druh mikromycety	Breakpointy MIC [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$] a interpretační kategorie			
		C	I	C-DD	R
Anidulafungin	<i>Candida albicans</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	$\leq 0,12$	0,25	–	$\geq 0,5$
	<i>C. guilliermondii</i>	≤ 2	4	–	≥ 8
	<i>C. krusei</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	–	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
Kaspofungin	<i>C. albicans</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	$\leq 0,12$	0,25	–	$\geq 0,5$
	<i>C. guilliermondii</i>	≤ 2	4	–	≥ 8
	<i>C. krusei</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	–	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
Mikafungin	<i>C. albicans</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	$\leq 0,06$	0,12	–	$\geq 0,25$
	<i>C. guilliermondii</i>	≤ 2	4	–	≥ 8
	<i>C. krusei</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	–	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	$\leq 0,25$	0,5	–	≥ 1
Flukonazol	<i>C. albicans</i>	≤ 2	–	4	≥ 8
	<i>C. glabrata</i>	–	–	≤ 32	≥ 64
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	–	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 2	–	4	≥ 8
Vorikonazol	<i>C. albicans</i>	$\leq 0,12$	0,25-0,5	–	≥ 1
	<i>C. krusei</i>	$\leq 0,5$	1	–	≥ 2
	<i>C. parapsilosis</i>	$\leq 0,12$	0,25-0,5	–	≥ 1
	<i>C. tropicalis</i>	$\leq 0,12$	0,25-0,5	–	≥ 1

Zdroj: CLSI 2017

MIC – minimální inhibiční koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]

C – citlivý

C-DD – citlivý v závislosti na dávce

I – intermediární

R – rezistentní

Tabulka 4 Klinické breakpointy velikosti inhibičních zón

Antimykotikum	Druh mikromycety	Breakpointy průměrů inhibičních zón [mm] a interpretační kategorie			
		C	I	C-DD	R
Kasprofungin	<i>Candida albicans</i>	≥ 17	15–16	–	≤ 14
	<i>C. glabrata</i>	–	–	–	–
	<i>C. guilliermondii</i>	≥ 13	11–12	–	≤ 10
	<i>C. krusei</i>	≥ 17	15–16	–	≤ 14
	<i>C. parapsilosis</i>	≥ 13	11–12	–	≤ 10
	<i>C. tropicalis</i>	≥ 17	15–16	–	≤ 14
Mikafungin	<i>C. albicans</i>	≥ 22	20-21	–	≤ 19
	<i>C. glabrata</i>	≥ 30	28-29	–	≤ 27
	<i>C. guilliermondii</i>	≥ 16	14-15	–	≤ 13
	<i>C. krusei</i>	≥ 22	20-21	–	≤ 19
	<i>C. parapsilosis</i>	≥ 16	14-15	–	≤ 13
	<i>C. tropicalis</i>	≥ 22	20-21	–	≤ 19
Flukonazol	<i>C. albicans</i>	≥ 17	–	14-16	≤ 13
	<i>C. glabrata</i>	–	–	≥ 15	≤ 14
	<i>C. parapsilosis</i>	≥ 17	–	14-16	≤ 13
	<i>C. tropicalis</i>	≥ 17	–	14-16	≤ 13
Vorikonazol	<i>C. albicans</i>	≥ 17	15-16	–	≤ 14
	<i>C. krusei</i>	≥ 15	13-14	–	≤ 12
	<i>C. parapsilosis</i>	≥ 17	15-16	–	≤ 14
	<i>C. tropicalis</i>	≥ 17	15-16	–	≤ 14

Zdroj: CLSI 2017

C – citlivý

I – intermediární

C-DD – citlivý v závislosti na dávce

R – rezistentní

Tabulka 5 Použité efektivní cut-off hodnoty

Antimykotikum	Druh mikromycety	ECV [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
Anidulafungin	<i>Candida lusitaniae</i>	1
Mikafungin	<i>C. lusitaniae</i>	0,5
Flukonazol	<i>C. guilliermondii</i>	8
	<i>C. lusitaniae</i>	1
Vorikonazol	<i>C. glabrata</i>	0,25
Itrakonazol	<i>C. glabrata</i>	4
	<i>C. krusei</i>	1
	<i>C. tropicalis</i>	0,5
Posakonazol	<i>C. lusitaniae</i>	1
	<i>C. albicans</i>	0,06
	<i>C. glabrata</i>	1
	<i>C. guilliermondii</i>	0,5
	<i>C. krusei</i>	0,5
	<i>C. parapsilosis</i>	0,25
	<i>C. tropicalis</i>	0,12
Amfotericin B	<i>C. lusitaniae</i>	0,06
	<i>C. albicans</i>	2
	<i>C. glabrata</i>	2
	<i>C. krusei</i>	2
	<i>C. parapsilosis</i>	2
<i>C. tropicalis</i>	2	

Zdroj: CLSI 2018

ECV – efektivní cut-off hodnota minimální inhibiční koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]

6.2 Základní antropometrická data

Ve výzkumném souboru mírně převažovali muži (59,3 %). 6,1 % tvořili pacienti do 18 let. Medián věku pacientů dosáhl 65 let. Většina pacientů byla v době nálezů hospitalizována na jednotkách intenzivní péče (64,5 %). Podrobně viz Tabulka 6.

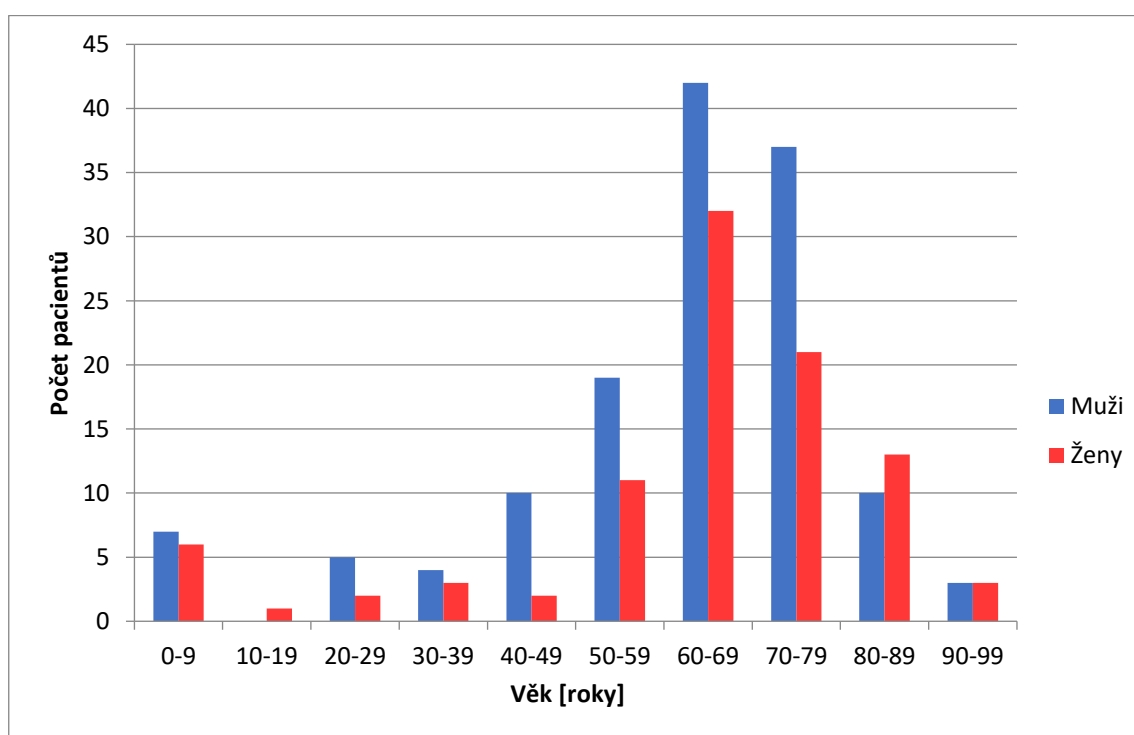
Počty pacientů podle věkových kategorií a pohlaví ukazuje Graf 1. Největší zastoupení měla kategorie 60–69 let následovaná věkovou skupinou 70–79 let. Nezanedbatelnou část pacientů tvořily děti do 9 let, šlo zejména o novorozence.

Tabulka 6 Charakteristika výzkumného souboru

Pohlaví		Počet (n = 231)	%
	Muži	137	59,3
	Ženy	94	40,7
Věk (medián 65 let)			
	Do 18 let	14	6,1
	Od 18 let	217	93,9
Oddělení hospitalizace			
	JIP	149	64,5
	oddělení se standardní péčí	82	35,5

JIP – jednotka intenzivní péče

Graf 1 Rozdělení pacientů podle věku a pohlaví



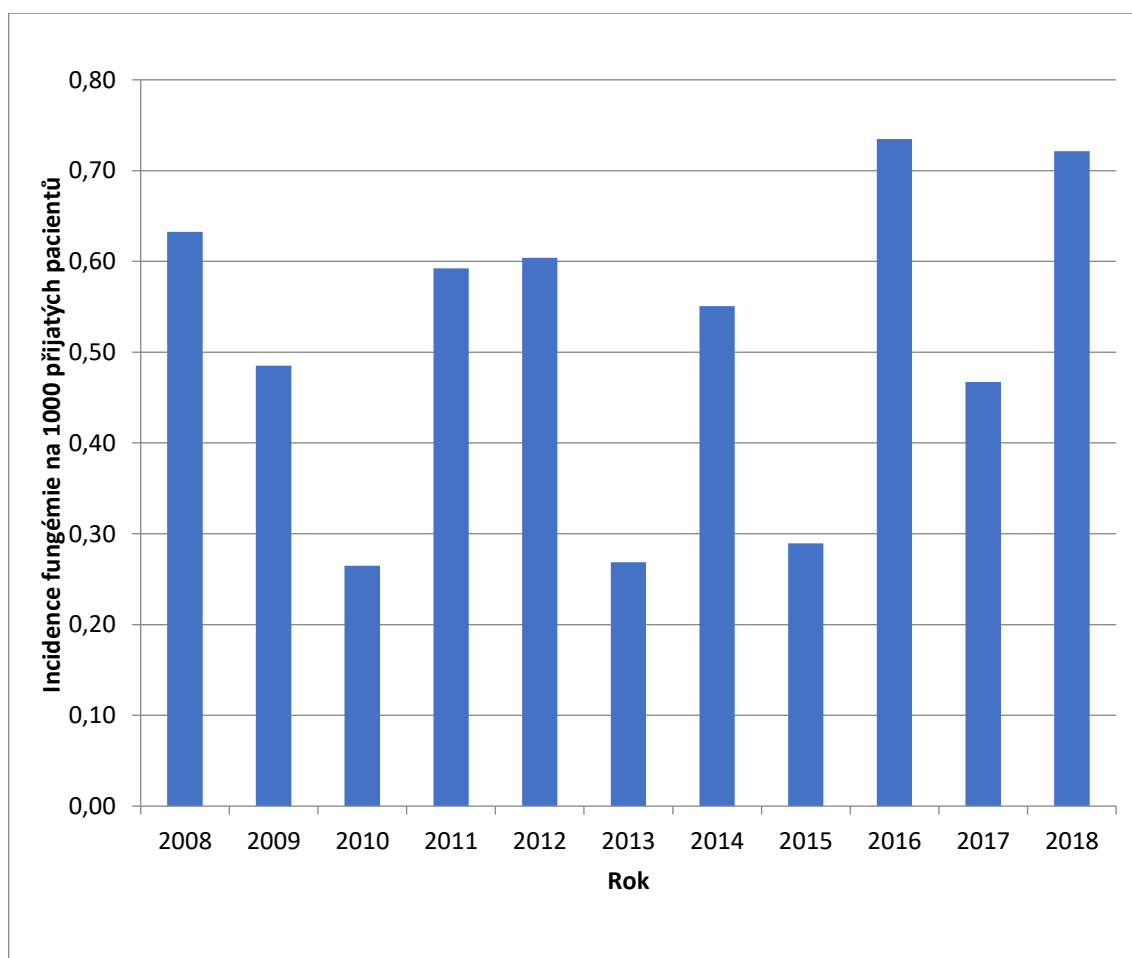
7. VÝSLEDKY

7.1 Incidence

V období od ledna 2008 do prosince 2018 bylo ve FNHK zjištěno 594 hemokultur pozitivních pro nález houby pocházejících od 231 pacientů. 77,1 % pozitivních kultur bylo aerobních, 13,7 % anaerobních, méně časté byly dětské (4,8 %) a mykologické hemokultivace (4,3 %).

Celková incidence fungémie ve sledovaném období dosáhla 0,51 případů na 1000 přijatých pacientů, z toho 0,49 případů kandidémie na 1000 přijetí. Při sledování vývoje incidence (viz Graf 2) byly patrné výkyvy. V letech 2010, 2013 a 2015 incidence nepřesáhla 0,30 případů na 1000 přijetí, v letech 2016 a 2018 se na druhou stranu objevilo více než 0,70 případů fungémie na 1000 přijatých pacientů. Celkový trend byl stabilní až mírně rostoucí.

Graf 2 Incidence fungémie



Při srovnání vybraných oddělení FNHK (Tabulka 7) byla incidence fungémie s převahou nejvyšší na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (KARIM) – 3,07 případů na 1000 přijatých pacientů, následovaly III. interní gerontometabolická klinika (1,64 případů na 1000 přijetí) a Plicní klinika (1,08 případů na 1000 přijatých).

Tabulka 7 Incidence fungémie na vybraných odděleních

Klinika	Incidence fungémie na 1000 hospitalizací
I. Interní kardiologická klinika	0,70
II. interní gastroenterologická a IV. interní hematologická klinika	1,10
III. interní gerontometabolická klinika	1,64
Dětská klinika	0,32
Chirurgická klinika	0,50
Klinika infekčních nemocí	0,39
Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny	3,07
Kardiochirurgická klinika	0,42
Neurologická klinika	0,14
Neurochirurgická klinika	0,41
Klinika onkologie a radioterapie	0,21
Plicní klinika	1,08
Urologická klinika	0,46

Pozn. II. interní a IV. interní klinika do roku 2011 tvořily jedno oddělení

7.2 Nejčastější diagnózy

U pacientů s pozitivním mykologickým nálezem v krvi byly jako diagnóza na žádance o vyšetření nejčastěji uvedeny novotvary (22,5 %), následované onemocněním trávicí soustavy (14,7 %), dýchací soustavy (14,3 %) a oběhové soustavy (11,7 %). Podrobně viz Tabulka 8.

Tabulka 8 Základní diagnóza fungemických pacientů dle MKN-10

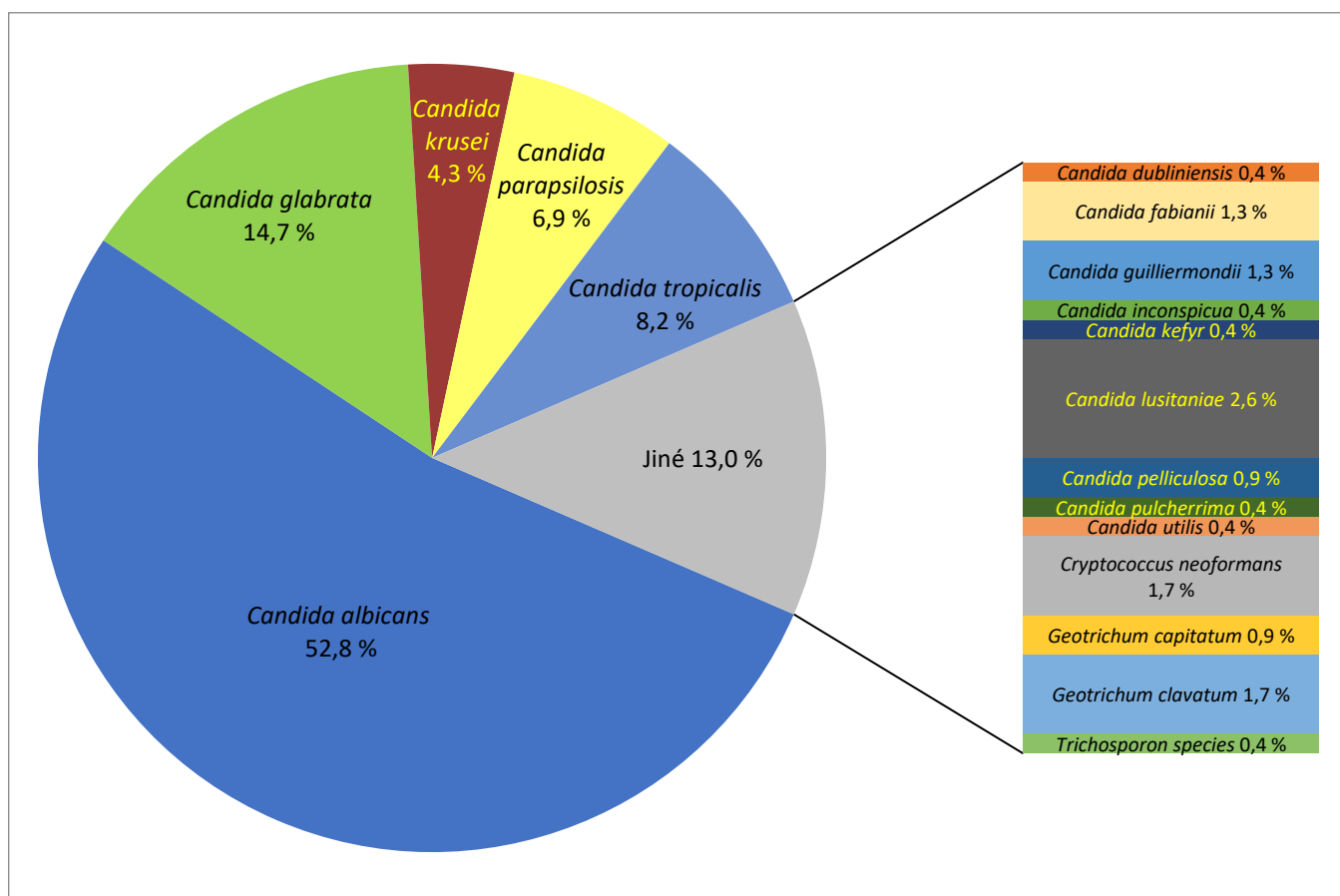
Kapitola MKN-10		Počet pacientů (n = 231)	%
A00–B99	Infekční a parazitární nemoci	19	8,2
C00–D48	Novotvary	52	22,5
D50–D89	Nemoci krve a krvetvorných orgánů	2	0,9
E00–E90	Nemoci endokrinní, výživy a přeměny látek	3	1,3
G00–G99	Nemoci nervové soustavy	4	1,7
I00–I99	Nemoci oběhové soustavy	27	11,7
J00–J99	Nemoci dýchací soustavy	33	14,3
K00–K93	Nemoci trávicí soustavy	34	14,7
L00–L99	Nemoci kůže a podkožního vaziva	1	0,4
M00–M99	Nemoci svalové a kosterní soustavy a pojivové tkáně	3	1,3
N00–N99	Nemoci močové a pohlavní soustavy	12	5,2
P00–P96	Některé stavy vzniklé v perinatálním období	7	3,0
Q00–Q99	Vrozené vady, deformace a chromozomální abnormality	2	0,9
R00–R99	Příznaky, znaky a abnormální klinické a laboratorní nálezy nezařazené jinde	19	8,2
S00–T98	Poranění, otravy a některé jiné následky vnějších příčin	11	4,8
Z00–Z99	Faktory ovlivňující zdravotní stav a kontakt se zdravotnickými službami	2	0,9

MKN-10 – 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů Světové zdravotnické organizace

7.3 Druhové spektrum

Distribuci druhů hub izolovaných z krve zobrazuje Graf 3. Nejčastěji byla nalézána kvasinka *C. albicans* (52,8 %), následovaná druhy *C. glabrata* (14,7 %), *C. tropicalis* (8,2 %) a *C. parapsilosis* (6,9 %). Celkově kandidy tvořily 95,3 % původců fungemií. Z dalších druhů byly izolovány *Cr. neoformans*, *Geotrichum clavatum*, *Geotrichum capitatum* a *Trichosporon* sp.

Graf 3 Distribuce druhů izolovaných mikromycet



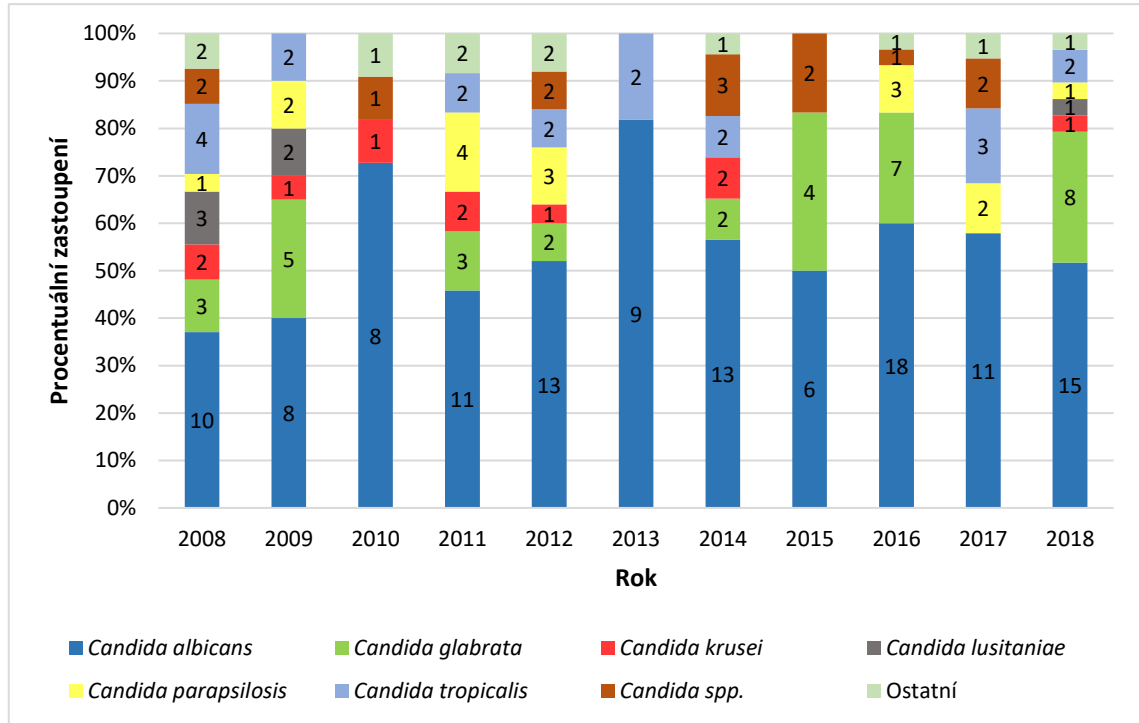
Ve 12 případech byly v krvi pacienta nalezeny 2 různé druhy hub (v polovině případů v jedné hemokultuře, ve druhé polovině ve dvou hemokulturách provedených v rámci jednoho týdne), nejčastěji šlo o kombinaci *C. albicans* a *C. glabrata*. 2 případy smíšené fungémie se objevily u stejného pacienta – na základě jednoho odběru byly izolovány *C. albicans* a *C. glabrata*, po měsíci byla během týdne identifikována *C. glabrata* a *C. parapsilosis*.

Jak se distribuce izolovaných druhů ve sledovaném období vyvíjela, ukazuje Graf 4. Ve všech letech byla nejčetnějším původcem fungémií *C. albicans*, od roku 2012 její podíl neklesl pod 50 %. V zastoupení non-*albicans* kandid jsme nepozorovali specifický trend, další houby se vyskytovaly se stabilní frekvencí.

V porovnání typů oddělení (viz Graf 5) *C. albicans* dominovala na chirurgických odděleních (69,2 %), neonatologii (66,7 %) a KARIM (65,2 %). Na interních klinikách tvořily více než polovinu izolátů (54,4 %) jiné druhy. Závislost druhu houby a typu od-

dělení byla statisticky významná pouze pro *C. albicans* na chirurgických odděleních ($p = 0,0339$) a interních klinikách ($p = 0,0038$).

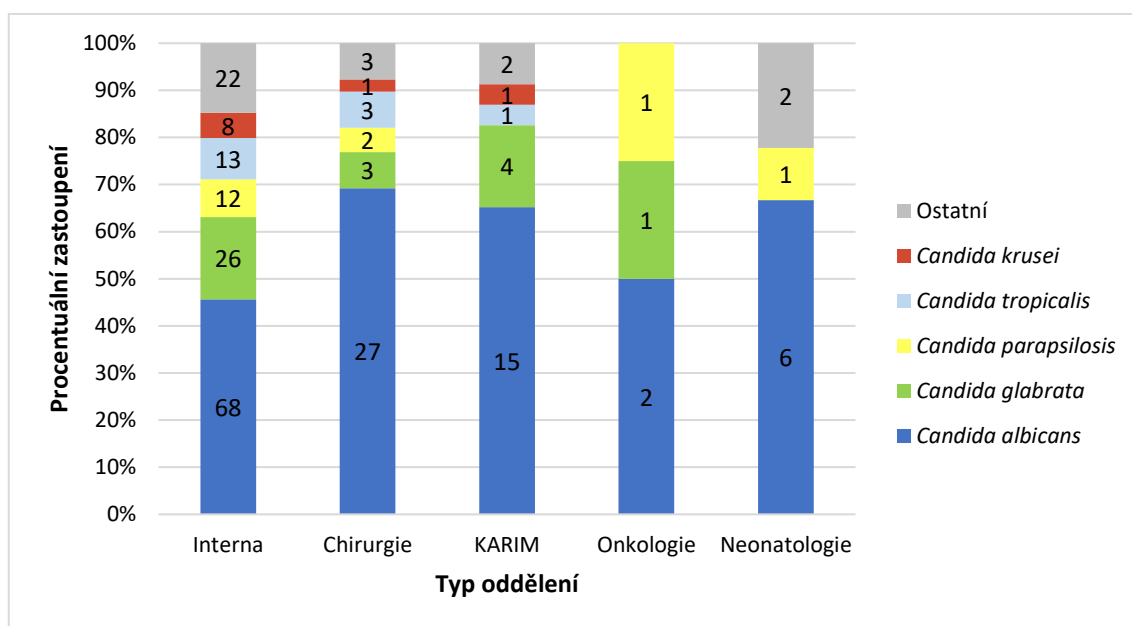
Graf 4 Vývoj spektra původců fungemií v letech 2008–2018



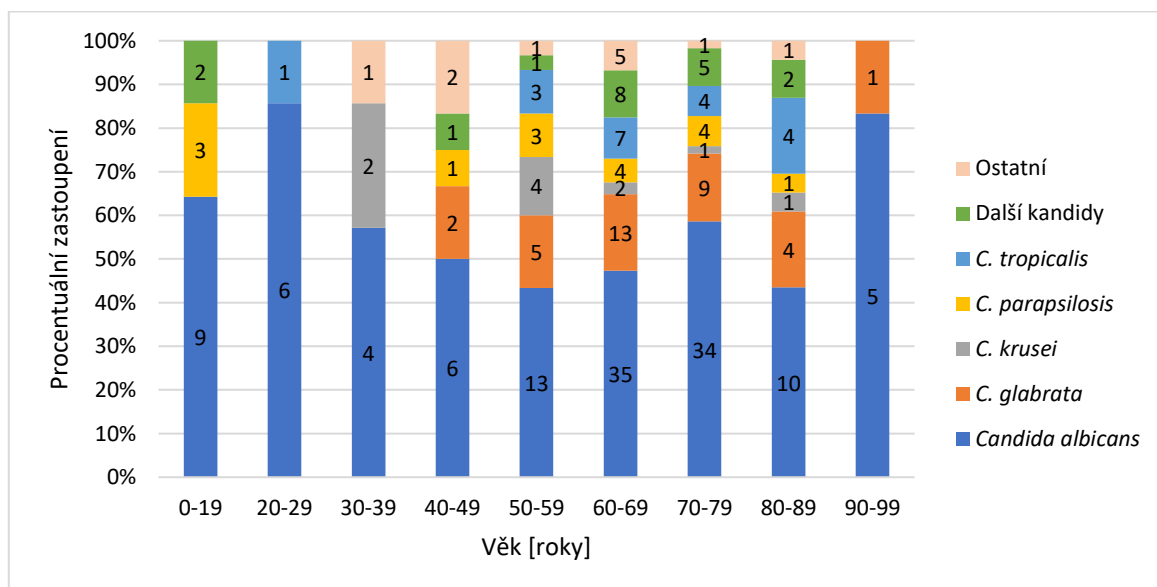
C. albicans byla častěji identifikována u žen než mužů (60,6 a 47,4 %), u dětí (do 18 let) než dospělých (64,3 a 52,1 %) a na jednotkách intenzivní péče než na odděleních se standardní péčí (57,0 a 45,1 %), pohlaví, věk, ani umístění na oddělení intenzivní péče však na druh původce fungemie nemělo statisticky významný vliv.

Poměrné zastoupení původců fungemie podle věkových kategorií ukazuje Graf 6. Převaha *C. albicans* byla nejvyšší u pacientů do 29 a nad 90 let, naopak u pacientů ve věku 50–69 a 80–89 let tvořily více než polovinu původců non-*albicans* kandidy a jiné houby. *C. parapsilosis* se vyskytovala zejména v krvi dětí (21,4 % původců fungemií u pacientů do 19 let). *C. glabrata* se na druhou stranu objevovala až u pacientů starších 40 let, kde tvořila v jednotlivých kategoriích 15,5 až 17,6 % původců.

Graf 5 Spektrum původců fungemií podle typu oddělení



Graf 6 Relativní zastoupení původců fungemie podle věkových kategorií



7.4 Citlivost izolátů k antimykotikům in vitro

7.4.1 Minimální inhibiční koncentrace

Tabulka 9 uvádí pro 4 nejčastěji izolované mikromycety (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* a *C. parapsilosis*) hodnoty MIC₅₀ a MIC₉₀ – nejnižší koncentrace antimykotika, při kterých je inhibováno 50 % respektive 90 % izolátů. Pro jednotlivé kvasinky se výsledky v rámci farmakologických skupin významně nelišily. Výjimku tvořil flukonazol,

kde byly v porovnání s ostatními azolovými antimykotiky hodnoty MIC₅₀ i MIC₉₀ u všech sledovaných kvasinek vyšší. Při srovnání druhů mikromycet byly nejvyšší hodnoty MIC echinokandinů zjištěny u *C. parapsilosis*, další druhy se mezi sebou výrazně neodlišovaly. V rámci testování azolů byly nejnižší hodnoty MIC₅₀ získány pro *C. albicans*, nejvyšší MIC₅₀ i MIC₉₀ posakonazolu, itrakonazolu a flukonazolu se ukázaly u *C. glabrata*.

Tabulka 9 MIC₅₀ a MIC₉₀ nejčastěji izolovaných kvasinek

	<i>Candida albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
	MIC ₅₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₉₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₅₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₉₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₅₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₉₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₅₀ [μg.ml ⁻¹]	MIC ₉₀ [μg.ml ⁻¹]
Anidulafungin	0,03	0,06	0,03	0,12	0,06	0,25	0,12	1
Mikafungin	0,008	0,03	0,015	0,03	0,015	0,06	1	2
Kasprofungin	0,03	0,06	0,06	0,06	0,03	0,25	0,5	2
Flucytosin	0,06	0,25	0,06	0,06	0,25	128	0,12	0,25
Amfotericin B	0,5	1	1	1	1	1	0,5	0,5
Posakonazol	0,015	0,12	1	2	0,12	0,5	0,06	0,5
Itrakonazol	0,06	0,5	0,5	1	0,25	0,5	0,12	0,25
Vorikonazol	0,008	0,5	0,25	0,5	0,12	0,5	0,06	2
Flukonazol	1	2	16	64	2	2	2	16
Isavukonazol	0,008	2	0,008	1				

MIC₅₀ – minimální inhibiční koncentrace antimykotika potřebná k inhibici 50 % izolátů [μg.ml⁻¹]

MIC₉₀ – minimální inhibiční koncentrace antimykotika potřebná k inhibici 90 % izolátů [μg.ml⁻¹]

Interpretaci MIC podle CLSI zobrazuje Graf 7 (interpretační breakpointy viz Tabulka 3). 100 % izolátů *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* a *C. guilliermondii* bylo *in vitro* citlivých k echinokandinům. Mezi nálezy *C. glabrata* se objevily 2 rezistentní vůči anidulafunginu (7,1 %), v případě *C. krusei* 2 izoláty rezistentní ke kasprofunginu (28,6 %) celková citlivost k echinokandinům byla nicméně velmi dobrá.

V případě azolových antimykotik se vyskytovala vyšší míra rezistence. Z 82 testovaných izolátů *C. albicans* bylo 97,6 % citlivých k flukonazolu, na druhou stranu u *C. glabrata* se objevilo 6 rezistentních vzorků (17,1 %), u *C. parapsilosis* 1 rezistentní nález (14,3 %). Vůči vorikonazolu byla v případě všech testovaných druhů (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* a *C. krusei*) více než pětina izolátů (22,2–25,0

%) vyhodnocena jako intermediárně citlivá, 2 nálezy *C. parapsilosis* (40,0 %) a 1 izolát *C. krusei* (11,1 %) byly rezistentní.

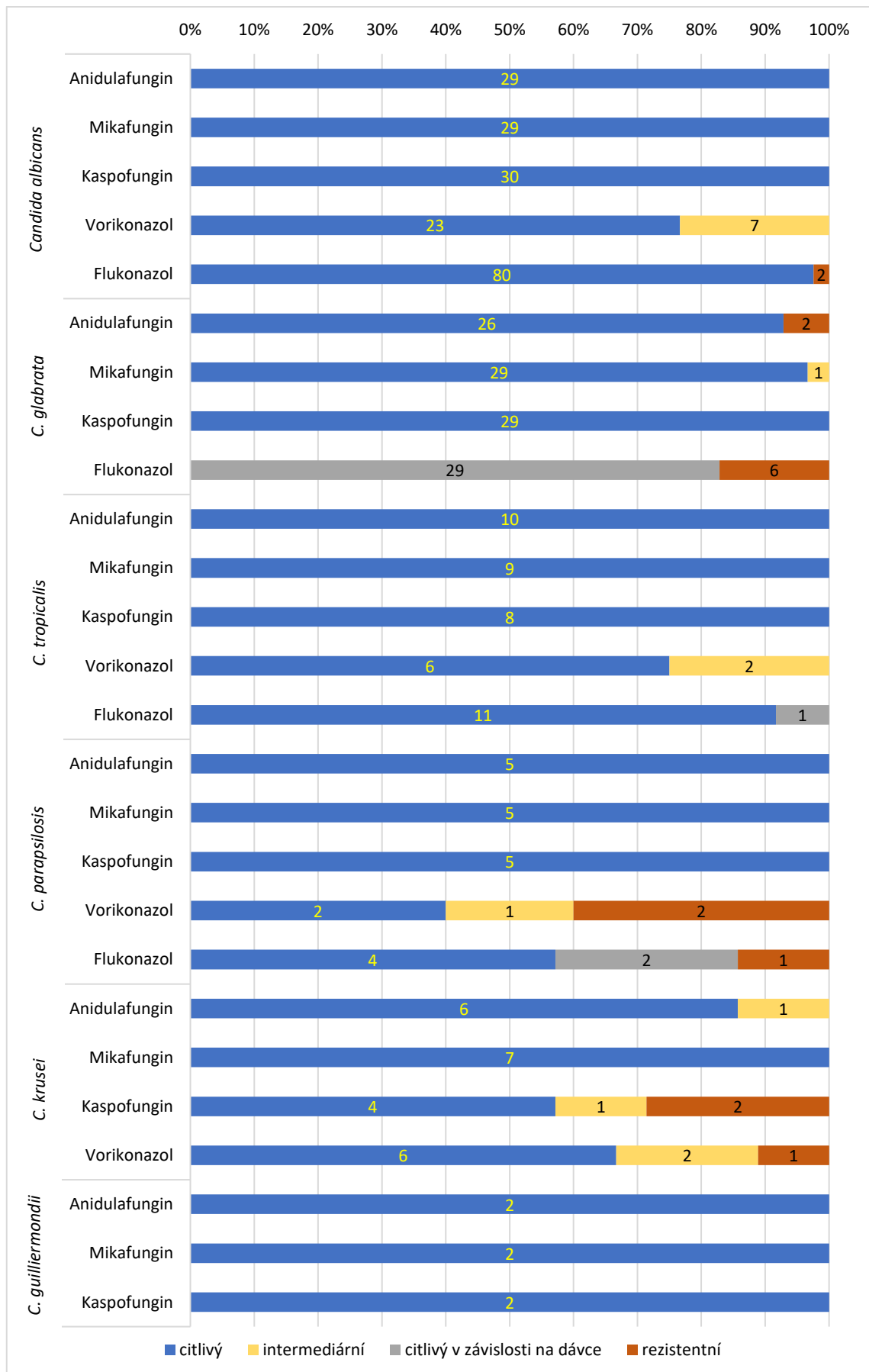
7.4.2 Inhibiční zóny

Interpretaci diskových difuzních testů znázorňuje Graf 8 (použité interpretační breakpointy viz Tabulka 4). Vůči kaspofunginu bylo *in vitro* citlivých 100 % izolátů *C. tropicalis* a 89,7 % izolátů *C. albicans*, identifikovali jsme 2 rezistentní vzorky *C. parapsilosis*. K flukonazolu byly citlivé všechny testované izoláty *C. albicans* a *C. tropicalis* a 93,8 % nálezů *C. parapsilosis*. Jako rezistentní jsme vyhodnotili 4 vzorky *C. glabrata* (12,1 %) a 1 izolát *C. parapsilosis* (6,3 %). K vorikonazolu byla nejvíce citlivá *C. albicans* (61,2 %), rezistence se objevila u 24 izolátů *C. albicans* (23,3 %), 8 izolátů *C. tropicalis* (44,4 %), 9 nálezů *C. parapsilosis* (56,3 %) a 3 izolátů *C. krusei* (42,9 %), s výjimkou přirozeně rezistentní *C. krusei* však v žádném případě nebyly izoláty zároveň rezistentní k flukonazolu.

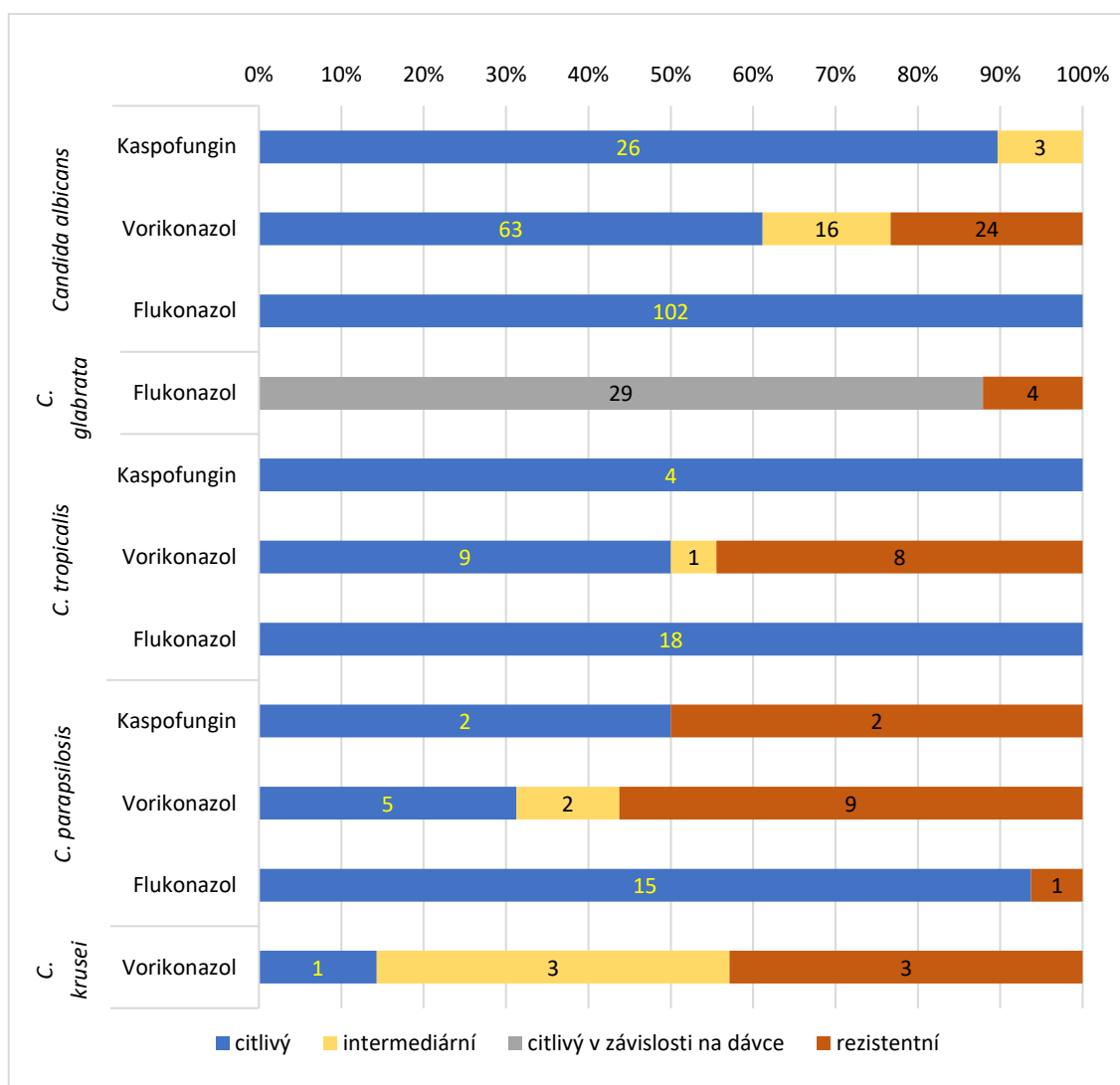
7.4.3 Shoda při interpretaci MIC a inhibičních zón

V 97 případech bylo u stejného pacienta během týdne provedeno stanovení MIC i velikosti inhibiční zóny a zároveň byla možná interpretace citlivosti dle CLSI. V 93,8 % dvojic se kategorie citlivosti shodovala, v žádném případě nebyl izolát jednou metodou vyhodnocen jako citlivý a druhou jako rezistentní. Citlivost *C. albicans* k flukonazolu byla kategoricky stejná oběma metodami u všech 59 dvojic, ke kaspofunginu právě u jedné dvojice zařazené do porovnání. V případě *C. tropicalis* jsme zaznamenali absolutní shodu v interpretované citlivosti vůči flukonazolu, vorikonazolu i kaspofunginu, u *C. parapsilosis* byla stejně interpretována citlivost k flukonazolu i vorikonazolu. Nižší než 100% shodu jsme zjistili u stanovení citlivosti *C. glabrata* k flukonazolu – 10 z 12 případů bylo vyhodnoceno stejně. Při testování citlivosti k vorikonazolu se shodovaly 3 z 6 dvojic izolátů *C. albicans* a 2 ze 3 dvojic *C. krusei*.

Graf 7 Interpretace hodnot minimální inhibiční koncentrace



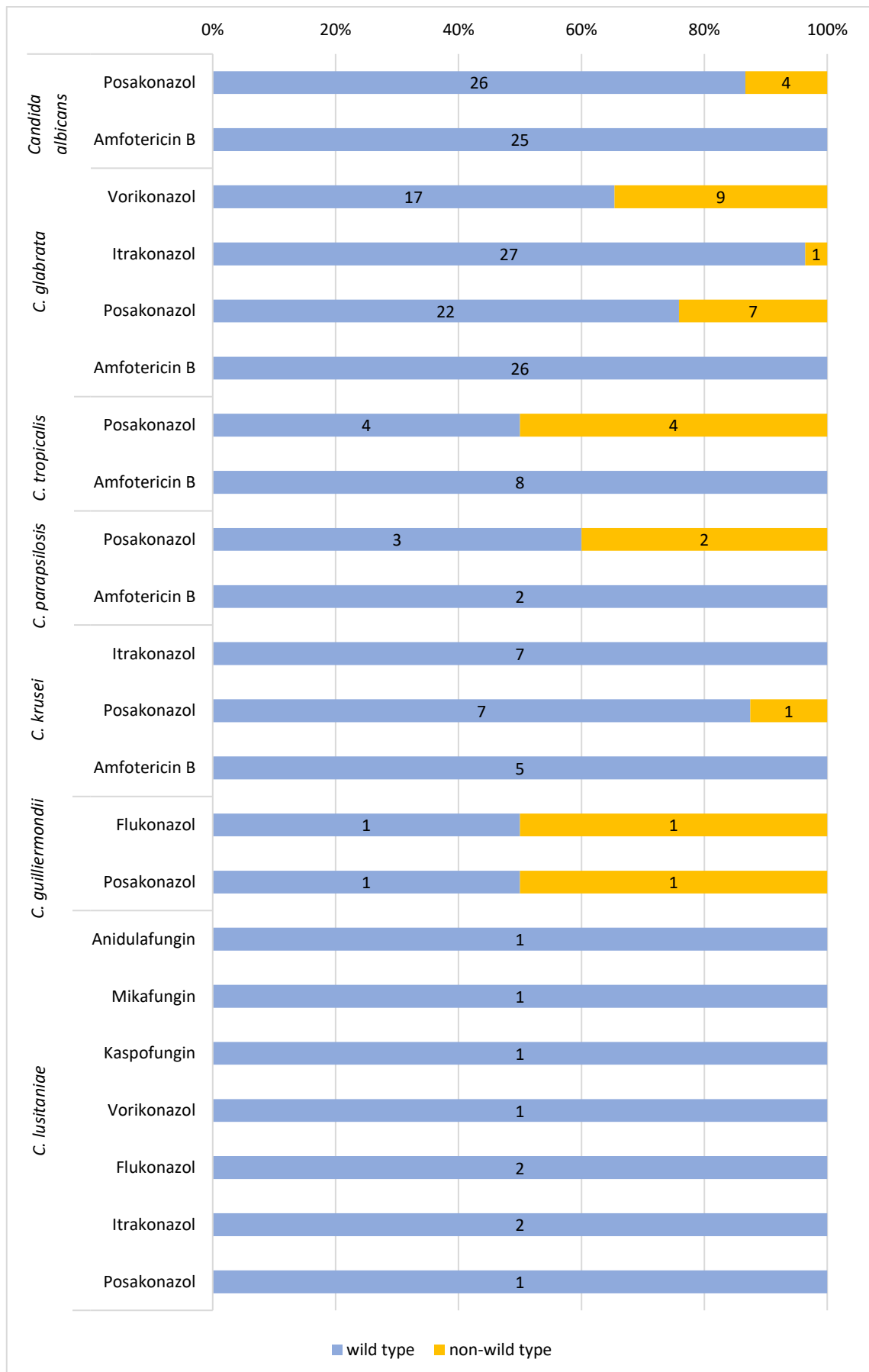
Graf 8 Interpretace diskových difuzních testů



7.4.4 Efektivní cut-off hodnoty

Poměry počtů wild type a non-wild type kmenů zobrazuje Graf 9 (použité ECV viz Tabulka 5). Všechny testované izoláty vykazovaly běžný fenotyp vůči amfotericinu B. 100 % izolátů *C. krusei* a *C. lusitaniae* bylo vyhodnoceno jako wild type také k itrakonazolu, v případě *C. glabrata* tvořily wild type kmeny 96,4 %. Ve vztahu k vorikonazolu bylo 9 nálezů (34,6 %) vyhodnoceno jako non-wild type. Vůči posakonazolu jsme identifikovali alespoň jeden non-wild type kmen u všech testovaných druhů kandid s výjimkou *C. lusitaniae*, pro kterou byl však k dispozici jen jeden vzorek.

Graf 9 Rozdělení izolátů podle epidemiologických cut-off hodnot



8. DISKUSE

Fungémie jako život ohrožující stav, postihující především imunokompromitované a jinak oslabené jedince, představuje významný problém současného zdravotnictví zejména vzhledem k narůstajícímu množství těchto pacientů a výskytu rezistentních původců. Pro úspěšnou léčbu je zásadní správná a včasná diagnóza, vysokou důležitost má také stanovení citlivosti k antimykotikům.

Ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) bylo v letech 2008 až 2018 zachyceno 231 pacientů s fungémií s celkovou incidencí 0,51 případů na 1000 přijatých, z toho 0,49 případů kandidémie na 1000 přijetí. Výsledky jsou srovnatelné s nálezy Kocmanové et al. (2018), kteří ve výběru českých nemocnic uvádí průměrnou incidenci kandidémie 0,40 případů na 1000 přijatých pacientů. Incidence ve FNHK se nejvíce přibližovala situaci ve Fakultní nemocnici v Motole (0,53 případů kandidémie na 1000 přijatých) a Všeobecné fakultní nemocnici v Praze (0,45 případů na 1000 přijatých pacientů). V rámci Evropy byly srovnatelné hodnoty incidence kandidémie popsány v Dánsku – 0,41 případů na 1000 přijatých pacientů (Arendrup et al. 2011a), ve Francii – 0,37 případů na 1000 přijetí (Tadec et al. 2016), a v Itálii – 0,31 případů na 1000 přijatých (Caggiano et al. 2015), objevily se nicméně i publikace uvádějící několikanásobně vyšší incidenci, například v Řecku 1,5 případů na 1000 přijatých (Papadimitriou-Olivgeris et al. 2019), nebo v další italské studii – 1,27 případů na 1000 přijetí (Prigitano et al. 2016). Rozdíly v incidenci lze připisovat kvalitě zdravotní péče v dané oblasti, ale zejména typu nemocnice s ohledem na strukturu pacientů, podíl specializovaných pracovišť (hematoonkologie, transplantace), zavedené diagnostické postupy, v neposledním případě na designu studií.

Při sledování vývoje incidence fungémie ve FNHK v jednotlivých letech byl celkový trend spíše stabilní, ale píky incidence v letech 2016 a 2018 (> 0,70 případů na 1000 přijatých) do budoucna naznačují možný růst. Zvyšování incidence kandidémie popsali mimo jiné Tadec et al. (2016), Prigitano et al. (2016), nebo Lortholary et al. (2014). Podle autorů Lortholary et al. (2014) byly za nárůst incidence zodpovědné *C. albicans* a *C. glabrata*, pouze u kandidémií vyvolaných těmito druhy došlo ve sledovaném období k signifikantnímu zvýšení incidence. Výkyvy v incidenci pozorované ve FNHK

v jednotlivých letech se neshodují s nálezy Kocmanové et al. (2018), jednalo se zřejmě pouze o regionální odchylky.

Při srovnání incidence na odděleních FNHK byly nejvyšší hodnoty zjištěny na KA-RIM (3,07 případů fungémie na 1000 přijatých pacientů), následovala III. interní gerontometabolická klinika (1,64 případů na 1000 hospitalizovaných) a Plicní klinika (1,08 případů na 1000 přijetí). Na těchto odděleních předpokládáme výrazný podíl pacientů s rizikovými faktory fungémie jako prodělaný chirurgický zákrok, katetrizace, parenterální výživa, chronická obstrukční plicní nemoc, diabetes mellitus, pobyt na JIP a jiné (Bassetti et al. 2010; Falcone et al. 2017).

Mezi pacienty v naší práci mírně převládali muži (59,3 %). Kocmanová et al. (2018) konstatují, že pohlaví při vzniku kandidémie zřejmě nemá vliv, nicméně jsme v průběhu rešerše literatury nenarazili na studii s převahou pacientek. Větší podíl mužů uvádí například Klingspor et al. (2018), Tadec et al. (2016), Hesstvedt et al. (2015), Hamal et al. (2007), nebo Kocmanová et al. (2018), statistickou významnost by však bylo třeba potvrdit dalším výzkumem.

Medián věku 65 let je srovnatelný s výsledky Kocmanové et al. (2018) – 64 let, Hamal et al. (2007) v další české práci uvedli nižší medián věku – 58 let. Z evropských studií získali hodnoty blízké našim Hesstvedt et al. (2015) v Norsku (67 let), oproti tomu Caggiano et al. (2015) v italské studii popsali výrazně nižší medián věku – 49,5 let. Ve FNHK tvořila skupina pacientů mladších 18 let nezanedbatelných 6,1 % souboru, výsledek lze zařadit mezi nálezy Kocmanové et al. (2018) a švédských autorů Klingspor et al. (2018) (8,5 % a 4 % pacientů do 18 let respektive).

Na JIP bylo ve FNHK v době pozitivního nálezu hospitalizováno 64,5 % fungemických pacientů obdobně jako v práci Kocmanové et al. (2018) – 69,4 %, podle Hamala et al. (2007) byla na JIP umístěna většina pacientů s kandidémií zařazených do studie, což odpovídá vážnému stavu umisťovaných pacientů. Srovnání s jinými zeměmi by vzhledem k odlišným definicím JIP mohlo být zavádějící (Prin a Wunsch 2012).

Podle našich výsledků byly jako základní diagnóza nejčastěji uvedeny novotvary (22,5 %), následovaly nemoci trávicí soustavy (14,7 %), dýchací soustavy (14,3 %) a oběhové soustavy (11,7 %). Kocmanová et al. (2018) popsali jako nejběžnější stejné

kategorie, ale v obměněném pořadí následně – onemocnění gastrointestinálního traktu 20,3 %, malignity 19,5 %, choroby plic 12,0 % a onemocnění srdce 9,6 %. Četný výskyt nemocí trávicí soustavy lze spojovat s předpokladem, že trávicí trakt je častým zdrojem endogenní fungémie (Tortorano et al. 2004), při interpretaci výsledků je nicméně vhodné vzít v úvahu, že kategorie MKN-10 Nemoci trávicí soustavy patří mezi nejčastější příčiny hospitalizace obecně, v roce 2017 byla podle Ústavu zdravotnických informací a statistiky České republiky třetím nejčastějším důvodem hospitalizace (19,0 hospitalizací na 1000 obyvatel) (ÚZIS ČR 2018). Novotvary byly v roce 2017 až sedmým nejčastějším důvodem hospitalizace (15,5 hospitalizací na 1000 obyvatel) (ÚZIS ČR 2018), skutečnost, že v naší práci byly vyhodnoceny jako nejběžnější diagnóza, lze vysvětlovat oslabeným imunitním systémem onkologických pacientů, ať už samotným onemocněním (hematoblastózy, anemie), tak i jeho léčbou (imunosupresivní chemoterapie, intravaskulární vstupy, intubace). Buchta et al. (1998) také zařadili malignity mezi nejčastější základní onemocnění pacientů s pozitivním nálezem kvasinky v krvi (přibližně 18 % pacientů), Lortholary et al. (2017) při cíleném sledování zachytili malignitu dokonce u 51,2 % pacientů s kandidémií.

Ve FNHK tvořily 95,3 % izolátů kvasinky rodu *Candida*, převahu kandid potvrdili i Krčmery a Kovačičová (2000) ve studii provedené na Slovensku (92,9 %), nebo Klingspor et al. (2018) ve Švédsku (99,4 %).

Podle srovnání spektra původců kandidémie s dalšími českými autory (Buchta et al. 1998; Hamal et al. 2007; Kocmanová et al. 2018) v České republice podíl *C. albicans* neklesá, tvoří stabilně přibližně polovinu případů, na rozdíl od některých dalších zemí (Guinea 2014; Caggiano et al. 2015; Arendrup et al. 2013). Od 90. let v ČR narůstá podíl *C. glabrata* v souladu s nálezy Arendrup et al. (2013), zastoupení *C. parapsilosis* naopak kleslo.

Spektrum původců při rozlišení typu oddělení odpovídá nálezům Kocmanové et al. (2018) – na chirurgických odděleních převažovala *C. albicans* (ve FNHK 69,2 %, dle Kocmanové et al. (2018) 59,6 %), na interních odděleních byly ve většině případů izolovány jiné houby (45,6 % izolátů *C. albicans* ve FNHK a 48,0 % dle Kocmanové et al. (2018)). Obdobné výsledky srovnání interních a chirurgických oddělení publikovali i Caggiano et al. (2015). Oproti Kocmanové et al. (2018) jsme zaznamenali větší rozdíl

v podílu *C. albicans* na JIP a odděleních se standardní péčí (57,0 % na JIP a 45,1 % mimo JIP v rámci FNHK, 51,0 % na JIP a 46,4 % mimo JIP v dalších českých nemocnicích). Vyšší zastoupení non-*albicans* kandid na interních klinikách, potažmo odděleních se standardní péčí, může být důsledkem používání azolových antimykotik (zvláště flukonazolu) v terapii a profylaxi.

Dále jsme sledovali, jak se spektrum původců měnilo s věkem pacientů. *C. parapsilosis* byla ve FNHK zodpovědná za 21,4 % fungémií u pacientů do 19 let. V práci Kocmanové et al. (2018) se stala *C. parapsilosis* obdobně druhým nejčastějším původcem kandidémie u dětí (do 18 let), ale s nižším zastoupením (13,0 %). Výsledky nedávných zahraničních studií ukazují naopak ještě větší podíl *C. parapsilosis* – 29,2 % u pacientů do 20 let ve Švédsku (Klingspor et al. 2018), 28,5 % do 17 let v Itálii (Caggiano et al. 2015), Harrington et al. (2017) v americké práci zaměřené na novorozence a pediatrické pacienty uvádí nález *C. parapsilosis* dokonce v 33,9 % pozitivních krevních kultur. Dalším druhem, u kterého jsme pozorovali vztah s věkem pacientů, byla *C. glabrata*, podle našich výsledků se objevovala až u pacientů starších 40 let, kde tvořila významnou část původců. Klingspor et al. (2018) nezachytili *C. glabrata* v hemokulturách pacientů do 20 let. Hesstvedt et al. (2015) uvádí *C. glabrata* jako druhého nejčastějšího původce kandidémie ve všech věkových skupinách od 30 let výše s tím, že zastoupení se s věkem zvyšovalo, podle našich výsledků zůstávalo stabilní.

Porovnání námi získaných hodnot minimální inhibiční koncentrace s dalšími autory, kteří také používali komerční soupravy Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems, USA), anebo Etest (bioMérieux, Francie), ukázalo obdobné výsledky pro flucytosin u všech čtyř sledovaných druhů (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* a *C. tropicalis*) včetně vysoké hodnoty MIC₉₀ u *C. tropicalis* (Prigitano et al. 2016), odpovídaly také hodnoty MIC₉₀ amfotericinu B (Tadec et al. 2016; Papadimitriou-Olivgeris et al. 2019; Klingspor et al. 2018). Papadimitriou-Olivgeris et al. (2019) v řecké studii popsali srovnatelné MIC₉₀ čtyř nejběžnějších kandid k flukonazolu, vorikonazolu a posakonazolu s výjimkou MIC₉₀ *C. glabrata* pro flukonazol a *C. parapsilosis* k vorikonazolu, které byly oproti námi získaným nižší (8 a 0,19 µg.ml⁻¹). MIC echinokandinů pro *C. parapsilosis* a *C. tropicalis* si odpovídaly s výsledky z FNHK, stejně MIC anidulafunginu vůči *C. albicans* a *C. glabrata*. MIC₉₀ pro mikafungin a kaspofungin ve vztahu k *C.*

albicans (0,19 a 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a *C. glabrata* (0,5 a 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) byly o 3 a více ředění vyšší než ve FNHK. Výsledné MIC anidulafunginu vůči *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* a *C. parapsilosis* podle autorů Klingspor et al. (2018) se v rámci dvou ředění shodovaly s našimi hodnotami, v případě flukonazolu rovněž s výjimkou nižší MIC₉₀ flukonazolu pro *C. parapsilosis* (1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). MIC vorikonazolu také odpovídaly, nižší než ve FNHK byla pouze MIC₉₀ pro *C. albicans* (0,015 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a MIC₅₀ a MIC₉₀ pro *C. parapsilosis* (0,008 a 0,015 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Caggiano et al. (2015) s využitím bujónové mikrodiluční metody podle CLSI získali srovnatelné MIC flukonazolu, posakonazolu, vorikonazolu, mikafunginu a anidulafunginu vůči *C. albicans*, v případě kaspofunginu byla MIC₅₀ i MIC₉₀ o více než 2 ředění vyšší než ve FNHK (0,25 a 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Vyšší hodnoty MIC₅₀ anidulafunginu (0,25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a MIC₉₀ kaspofunginu a mikafunginu (v obou případech 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) zjistili i pro *C. glabrata*. Podobně byla oproti našim výsledkům zvýšená MIC₅₀ k anidulafunginu pro *C. parapsilosis* (1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), u této kvasinky naopak popsali nižší MIC₉₀ vůči flukonazolu a vorikonazolu (1 a 0,06 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), než se objevila ve FNHK. V případě *C. tropicalis* italští autoři uvedli vyšší MIC₉₀ flukonazolu a vorikonazolu (64 a 8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), MIC₅₀ i MIC₉₀ mikafunginu (0,25 a 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Castanheira et al. (2017) stejnou metodou získali obdobné výsledky MIC₅₀ i MIC₉₀ posakonazolu pro *C. parapsilosis* a *C. tropicalis* jako jsme popsali ve FNHK. Kocmanová et al. (2018) získávali hodnoty MIC standardní mikrodiluční metodou podle EUCAST, přesto došli ke srovnatelným výsledkům pro amfotericin B a echinokandiny (anidulafungin, mikafungin a kaspofungin), o více než 2 ředění byla podle jejich dat nižší jen MIC₉₀ kaspofunginu k *C. parapsilosis* (0,25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Odpovídaly si také MIC₅₀ posakonazolu, itrakonazolu a vorikonazolu pro *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. parapsilosis*, v případě *C. tropicalis* byly uvedené hodnoty o 3 a více ředění nižší. Kocmanová et al. (2018) popsali celkově nižší MIC flukonazolu (s výjimkou *C. glabrata*).

Při interpretaci MIC jsme ve FNHK ve sledovaném období zjistili celkově velmi dobrou *in vitro* citlivost k echinokandinům, poměrně dobře citlivá byla i azolová anti-mykotika, rezistence k flukonazolu se objevila u *C. glabrata* (6 případů; 17,1 %) a *C. parapsilosis* (1 případ; 14,3 %), rezistence k vorikonazolu také u *C. parapsilosis* (2 případy; 40,0 %) a *C. krusei* (1 případ; 11,1 %), zejména u *C. parapsilosis* a *C. krusei* však výsledky mohou být ovlivněny malým počtem vzorků, které byly ve sledovaném

období testovány. Castanheira et al. (2017) na základě testování mikromycet z 29 zemí a různých klinických materiálů metodikou CLSI shodně udávají vysokou citlivost *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* a *C. guilliermondii* k anidulafunginu, mikafunginu i kaspofunginu (95,9 až 100 % citlivých izolátů) s výjimkou *C. parapsilosis* vůči anidulafunginu, kde bylo citlivých pouze 88,7 % testovaných vzorků. *C. albicans* a *C. tropicalis* vykazovaly podobně jako v našich výsledcích výbornou citlivost k flukonazolu (99,6 a 96,2 %), v případě *C. glabrata* a *C. parapsilosis* byla rezistence mírně nižší než ve FNHK (8,0 a 3,8 %). Z dalších autorů využívajících interpretační kritéria CLSI Doi et al. (2016) v brazilské práci popsali naopak výrazně vyšší rezistenci *C. glabrata* k flukonazolu (36 %) než byla stanovena ve FNHK, testované izoláty *C. albicans*, *C. tropicalis* a *C. parapsilosis* však byly podle jejich výsledků k flukonazolu i vorikonazolu ve všech případech citlivé. Čtyři nejčastěji izolované druhy kandid vykazovaly 100% citlivost také k anidulafunginu. Výbornou citlivost *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* a *C. krusei* potvrdili i Prigitano et al. (2016). Při srovnání citlivosti k azolovým antimykotikům s našimi výsledky italští autoři popsali minimální rozdíly v citlivosti *C. albicans* k flukonazolu a vorikonazolu, rezistentních izolátů *C. glabrata* a *C. parapsilosis* vůči flukonazolu zachytili méně (9,7 a 3,4 %), nižší míru rezistence uvedli i pro vorikonazol při působení proti *C. parapsilosis* (0,9 %). Na rozdíl od výsledků z FNHK neobjevili žádný rezistentní izolát *C. krusei* k vorikonazolu. Naopak v případě *C. tropicalis* popsali Prigitano et al. (2016) 11,3% rezistenci k flukonazolu a 7,7% rezistenci k vorikonazolu, zatímco my jsme ani jeden vzorek nevyhodnotili jako rezistentní. Francouzští autoři Tadec et al. (2016) popisují shodně s našimi výsledky výbornou citlivost *C. albicans* ke kaspofunginu, flukonazolu a vorikonazolu. Srovnatelná je také míra rezistence *C. parapsilosis* a *C. glabrata* k flukonazolu (10,7 a 15,8 %), vyhodnotili však lepší citlivost izolátů *C. krusei* k vorikonazolu (86 %) a vyšší podíl rezistentních nálezů *C. glabrata* ke kaspofunginu. Citlivost kandid v Asijsko-pacifickém regionu popsali Tan et al. (2016). I v této oblasti byly *C. albicans*, *C. parapsilosis* a *C. tropicalis* vysoce citlivé k echinokandinům (více než 99 % citlivých izolátů), s výsledky z FNHK se shoduje i velmi dobrá citlivost *C. albicans* k flukonazolu a vorikonazolu (99,7 a 100 % citlivých izolátů). Míra rezistence *C. glabrata* k flukonazolu (5,2 %) byla nižší než podle výsledků z FNHK a výše zmíněných evropských autorů (Prigitano et al. 2016; Tadec et al. 2016; Papadimitriou-Olivgeris et al. 2019), na druhou stranu Tan

et al. (2016) zachytili vyšší rezistenci *C. tropicalis* k flukonazolu i vorikonazolu (18,2 a 14,0 %) s tím, že *C. tropicalis* byla podle jejich práce v dané oblasti druhým nejčastějším druhem izolovaným z krve (identifikována v 30,7 % izolátů). Zvýšenou rezistenci *C. tropicalis* v Asijsko-pacifickém regionu oproti Evropě nebo Americe popsali i Pfaller et al. (2010), při stanovení citlivosti ale vycházeli z velikosti inhibičních zón.

Za použití diskových metod jsme ve FNHK za sledované období vyhodnotili velmi dobrou citlivost *C. albicans* a *C. tropicalis* ke kaspofunginu srovnatelně s výsledky stanovení citlivosti pomocí MIC, těm odpovídala i 100% citlivost *C. albicans* a 12,1 % rezistentních izolátů *C. glabrata* vůči flukonazolu. Vyšší míra rezistence byla vyhodnocena pro *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* i *C. krusei* proti vorikonazolu, výsledky nicméně vychází z relativně malého počtu vzorků. Stanovení citlivosti původců fungemie pomocí inhibičních zón se na Slovensku věnovali Drgoňa et al. (2007), shodně popsali nulovou rezistenci *C. albicans* k flukonazolu, rezistence non-*albicans* kandid k flukonazolu byla podle jejich výsledků vyšší (13,5 %), v případě vorikonazolu naopak nižší (7 %) než ve FNHK, ale srovnání citlivosti non-*albicans* kandid jako celku problematizuje odlišný poměr jednotlivých druhů. Pfaller et al. (2010) hodnotili citlivost kandid z různých materiálů získaných v 41 zemích. V souladu s našimi výsledky popsali velmi dobrou citlivost *C. albicans* a *C. parapsilosis* k flukonazolu. Rezistence *C. tropicalis* a *C. glabrata* byla vyšší než ve FNHK u vzorků z Evropy (2,9 a 16,3 %) i v rámci celkových výsledků (4,1 a 15,7 %), rezistenci k vorikonazolu zjistili naopak výrazně nižší – v evropských centrech bylo zachyceno 1,1 % rezistentních izolátů *C. albicans*, 3,9 % *C. tropicalis*, 1,1 % *C. parapsilosis* a 7,7 % *C. krusei*, celkově vykazovalo *in vitro* rezistenci 1,2 % nálezů *C. albicans*, 5,4 % *C. tropicalis*, 1,8 % *C. parapsilosis* a 7,6 % *C. krusei*.

Aplikace ECV definovaných CLSI na výsledky získané ve sledovaném období ve FNHK ukázala 100% wild type fenotyp k amfotericinu B u všech testovaných kvasinek (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* a *C. krusei*) shodně s autory Castanheira et al. (2017) a Prigitano et al. (2016). Prigitano et al. (2016) popsali výrazně menší podíl non-wild type izolátů kandid k azolovým antimykotikům, při přepočtu podle aktuálních ECV (CLSI 2018) se však ukázalo, že zastoupení non-wild type nálezů *C. glabrata* ve vztahu k vorikonazolu (37,6 %), itrakonazolu (5,6 %) a posakonazolu (20,0 %) i *C. tropicalis* vůči posakonazolu (51,9 %) bylo srovnatelné s výsledky ve FNHK.

Vyšší zastoupení běžného fenotypu zůstalo i po přepočtu u *C. albicans*, *C. parapsilosis* a *C. krusei* ve vztahu k posakonazolu (2,9 %; 0,9 % a 0 % non-wild type izolátů). Non-wild type nález *C. krusei* k posakonazolu identifikovaný ve FNHK byl zároveň rezistentní k vorikonazolu, non-wild type izolát *C. parapsilosis* byl v prvním případě intermediárně citlivý k vorikonazolu a rezistentní k flukonazolu, v druhém případě rezistentní k vorikonazolu a citlivý v závislosti na dávce vůči flukonazolu.

Vyhodnocení překryvu interpretačních kategorií pro MIC a inhibiční zóny ukázalo ve FNHK velmi dobrou shodu zejména pro flukonazol (97,5 % dvojic bylo interpretováno stejně). Ke srovnatelným výsledkům došli Vasconcelos Júnior et al. (2012) při porovnání diskové metody a mikrodiluční bujónové metody stanovení citlivosti k flukonazolu. Citlivost *C. albicans* a *C. tropicalis* byla vždy vyhodnocena stejně, v případě *C. parapsilosis* se shodovalo 44 ze 47 stanovení (93,6 %), celkově shoda dosáhla 97,8 %.

Epidemiologická situace ve FNHK podle očekávání odpovídala stavu v dalších českých nemocnicích (Kocmanová et al. 2018). Incidenci bude vhodné do budoucna sledovat kvůli možnosti růstu. Stanovení citlivosti, mimo vyšší rezistence k vorikonazolu při použití diskových metod, celkově nepřineslo překvapivé výsledky. Výběr echinokandinů jako léčiv první volby v iniciální terapii kandidémie (Tissot et al. 2017; Pappas et al. 2016; Cornely et al. 2012) podporuje vysoká citlivost kandid k echinokandinům. Vzhledem k výskytu rezistence k azolovým antimykotikům je na místě stanovování *in vitro* citlivosti, ta se ukázala být velmi dobrá zejména u *C. albicans* a *C. tropicalis*. Farmakoterapie by nicméně nikdy neměla být volena pouze na základě *in vitro* stanovení citlivosti k antimykotikům, jelikož klinický efekt léčby závisí na mnoha dalších faktorech (Mallátová et al. 2011).

Limity této práce spočívají v relativně omezeném přístupu k informacím o pacientech – chybí některé důležité anamnestické údaje, vedlejší diagnózy, data o užívaných léčivých přípravcích, způsobu a výstupech terapie fungémie. Vzhledem k tomu, že se jedná o monocentrickou studii, výsledky mohou být ovlivněny metodami a postupy používanými ve FNHK a specifickou skladbou pacientů. Jelikož se většina publikací nevěnuje fungémiím všeobecně, ale pouze kandidémiím, mohou při porovnávání výsledků s naší prací vznikat určité nepřesnosti. Stanovení citlivosti se provádělo

pomocí komerčních souprav, ale vyhodnocování s využitím breakpointů vytvořených pro standardní referenční metody. Dalším limitem je retrospektivní charakter práce.

9. ZÁVĚR

Fungémie, charakterizovaná izolací houby z krevního řečiště, je život ohrožující stav, který se objevuje zejména u imunokompromitovaných a jinak oslabených jedinců. K závažnosti přispívá časová náročnost standardních metod diagnostiky a stanovení citlivosti k antimykotikům.

Tato práce popisuje výskyt fungémie ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) v letech 2008–2018, včetně charakteristiky pacientů, spektra původců a jejich citlivost k antimykotikům *in vitro*.

Incidence fungémie ve FNHK ve sledovaném období dosáhla 0,51 případů na 1000 přijatých pacientů. Většina pacientů byla hospitalizována na jednotkách intenzivní péče (64,5 %). Nejčastější diagnózou uvedenou na žádance o vyšetření byly novotvary (22,5 %), dále choroby trávicí soustavy (14,7 %) a dýchací soustavy (14,3 %). Dominantním původcem byla *Candida albicans* (52,8 %), následovaná druhy *C. glabrata* (14,7 %), *C. tropicalis* (8,2 %) a *C. parapsilosis* (6,9 %). Na základě interpretace hodnot MIC, testované izoláty vykazovaly výbornou citlivost k echinokandinům – 100 % nálezů *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* a *C. guilliermondii* bylo citlivých. Snížená citlivost k azolovým antimykotikům se objevila u *C. glabrata* a *C. parapsilosis*. Diskové metody ukázaly vyšší rezistenci *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* i *C. krusei* k vorikonazolu (23,3 %; 44,4 %; 56,3 % a 42,9 % respektive). Pro amfotericin B měly všechny testované mikromycety citlivý wild type fenotyp. Celková situace poměrně dobře odpovídala českým i zahraničním publikacím.

Do budoucna je na místě pokračovat v monitorování *in vitro* citlivosti houbových izolátů k antimykotikům, aby bylo možné včas zachytit případné změny druhového spektra nebo nárůst rezistence původců fungémií a vhodně upravit používané postupy terapie. Naděje na zlepšení prognózy fungémie přináší nové laboratorní metody umožňující rychlejší diagnózu a stanovení citlivosti.

10. POUŽITÉ ZKRATKY

zkratka	anglický význam	český význam
AIDS	<i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>	syndrom získaného selhání imunity
APACHE II skóre	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score</i>	system hodnocení závažnosti onemocnění na jednotkách intenzivní péče
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>	jednotka tvořící kolonie
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>	americká organizace tvořící standardy pro klinické laboratorní testování citlivosti
ECIL	<i>The European Conference on Infections in Leukemia</i>	evropská konference zaměřená na infekce u pacientů trpících leukémií
ECMM	<i>European Confederation of Medical Mycology</i>	Evropská konfederace pro lékařskou mykologii
ECV	<i>Effective Cut-off Value</i>	efektivní cut-off hodnota – hodnota MIC oddělující wild type a non-wild type organismy
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>	imunologická metoda stanovení antigenů a protilátek
EORTC/MSG	<i>European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus Group</i>	skupina odborníků na poli mykologie z Evropy a Spojených států amerických, která navrhla úpravu kritérií a definic pro určení invazivních mykotických infekcí
ESCMID	<i>European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</i>	evropská společnost zabývající se klinickou mikrobiologií a infekčními chorobami
ESICM	<i>European Society of Intensive Care Medicine</i>	nezávislá evropská organizace zabývající se intenzivní medicínou
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>	evropská komise zabývající se testováním citlivosti antimikrobních látek
FNHK		Fakultní nemocnice Hradec Králové
IDSA	<i>Infectious Diseases Society of America</i>	americká společnost zabývající se infekčními chorobami
IMC	<i>Isothermal Microcalorimetry</i>	izotermální mikrokalorimetrie
JIP		jednotka intenzivní péče

zkratka	anglický význam	český význam
MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight</i>	laserová desorpce/ionizace za přítomnosti matrice s analyzátozem doby letu – ionizační technika pro analýzu biologických makromolekul
MHIC	<i>Minimal Heat Inhibitory Concentration</i>	end point pro stanovení citlivosti hub izotermální mikrokolorimetrií
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>	minimální inhibiční koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
MIC₅₀	<i>Minimum Inhibitory Concentration 50</i>	minimální koncentrace potřebná k inhibici růstu 50 % izolátů [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
MIC₉₀	<i>Minimum Inhibitory Concentration 90</i>	minimální koncentrace potřebná k inhibici růstu 90 % izolátů [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
MKN-10		10. revize mezinárodní klasifikace nemocí – systém kategorizace onemocnění dle Světové zdravotnické organizace
MPCC	<i>Minimal Profile Change Concentration</i>	end point pro stanovení citlivosti pomocí MALDI-TOF MS; minimální koncentrace antimikrobiální látky, při které se hmotnostní spektrum signifikantně liší
NASBA	<i>Nucleic Acid Sequence-Based Amplification</i>	isotermická variace PCR na bázi transkripce s RNA jako templátem
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>	americká komise tvořící standardy pro klinické laboratorní testování citlivosti
PAO	<i>Porous Aluminium Oxide</i>	porézní oxid hlinitý
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>	polymerázová řetězová reakce
PNA-FISH	<i>Peptide Nucleic Acid Fluorescent in Situ Hybridization</i>	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace s peptidovou nukleovou kyselinou (chemickým analogem nukleových kyselin) jako sondou

11. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Nález hub v hemokulturách v České republice a na Slovensku	34
Tabulka 2 Rizikové faktory kandidémie	38
Tabulka 3 Klinické breakpointy minimální inhibiční koncentrace.....	45
Tabulka 4 Klinické breakpointy velikosti inhibičních zón	46
Tabulka 5 Použité efektivní cut-off hodnoty.....	47
Tabulka 6 Charakteristika výzkumného souboru	48
Tabulka 7 Incidence fungémie na vybraných odděleních	50
Tabulka 8 Základní diagnóza fungemických pacientů dle MKN-10.....	51
Tabulka 9 MIC ₅₀ a MIC ₉₀ nejčastěji izolovaných kvasinek	55

12. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Rozdělení pacientů podle věku a pohlaví.....	48
Graf 2 Incidence fungémie.....	49
Graf 3 Distribuce druhů izolovaných mikromycet	52
Graf 4 Vývoj spektra původců fungemií v letech 2008–2018	53
Graf 5 Spektrum původců fungemií podle typu oddělení.....	54
Graf 6 Relativní zastoupení původců fungémie podle věkových kategorií.....	54
Graf 7 Interpretace hodnot minimální inhibiční koncentrace	57
Graf 8 Interpretace diskových difuzních testů	58
Graf 9 Rozdělení izolátů podle epidemiologických cut-off hodnot	59

13. POUŽITÁ LITERATURA

- ANONYMOUS, 2011. Susceptibility Testing of Yeasts 2011: Agar diffusion method with Neo-Sensitabs. *Rosco Diagnostica* [online] [vid. 2019-09-14]. Dostupné z: <https://www.rosco.dk/gfx/pdf/yeasts.pdf>
- ANONYMOUS, 2018a. *BACTEC Plus Aerobic / F Culture Vials Bujón so sójovo-kazeínovým hydrolyzátem v plastovej liekovke* [online] [vid. 2019-09-14]. Dostupné z: <http://legacy.bd.com/resource.aspx?IDX=28327>
- ANONYMOUS, 2018b. *Souhrn údajů o přípravku Enterol* [online] [vid. 2019-09-24]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC119848.pdf&type=spc&as=enterol-spc>
- ANONYMOUS, 2019. *BACT/ALERT® kultivační média* [online] [vid. 2019-08-28]. Dostupné z: <https://www.biomerieux.cz/produkty/bactalertr-kultivacni-media>
- ANTACHOPOULOS, C, R PETRAITIENE, E ROILIDES a TJ WALSH, 2015. Mucormycosis (Zygomycosis). In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 159–168. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_13
- APPEL-DA-SILVA, MC, GA NARVAEZ, LRR PEREZ, L DREHMER a J LEWGOY, 2017. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* fungemia following probiotic treatment. *Medical Mycology Case Reports* [online]. **18**, 15–17. ISSN 22117539. Dostupné z: doi:10.1016/j.mmcr.2017.07.007
- ARENDRUP, MC, B BRUUN, JJ CHRISTENSEN, K FUURSTED, HK JOHANSEN, P KJALDGAARD, JD KNUDSEN, L KRISTENSEN, J MOLLER, L NIELSEN, FS ROSENVINGE, B RODER, HC SCHONHEYDER, MK THOMSEN a K TRUBERG, 2011a. National Surveillance of Fungemia in Denmark (2004 to 2009). *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **49**(1), 325–334. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.01811-10
- ARENDRUP, MC, E DZAJIC, RH JENSEN, HK JOHANSEN, P KJALDGAARD, JD KNUDSEN, L KRISTENSEN, C LEITZ, LE LEMMING, L NIELSEN, B OLESEN, FS ROSENVINGE, BL RØDER a HC SCHØNHEYDER, 2013. Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. **19**(8), e343–e353. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1111/1469-0691.12212
- ARENDRUP, MC, J MELETIADIS, JW MOUTON, K LAGROU, P HAMAL, J GUINEA a . SUBCOMMITTEE ON ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF THE ESCMID EUROPEAN COMMITTEE FOR ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING, 2017. EUCAST antifungal MIC method for yeasts. *EUCAST E.DEF 7.3.1* [online]. (January), 21. Dostupné z: <http://www.eucast.org>
- ARENDRUP, MC a DS PERLIN, 2014. Echinocandin resistance: An emerging clinical problem? *Current Opinion in Infectious Diseases* [online]. **27**(6), 484–492. ISSN 14736527. Dostupné z: doi:10.1097/QCO.000000000000111
- ARENDRUP, MC, S SULIM, A HOLM, L NIELSEN, SD NIELSEN, JD KNUDSEN, NE DRENCK,

- JJ CHRISTENSEN a HK JOHANSEN, 2011b. Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **49**(9), 3300–3308. ISSN 00951137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.00179-11
- ASCIUGLU, S, JH REX, B DE PAUW, JE BENNETT, J BILLE, F CROKAERT, DW DENNING, JP DONNELLY, JE EDWARDS, Z ERJAVEC, D FIERE, O LORTHOLARY, J MAERTENS, J F MEIS, T F PATTERSON, J RITTER, D SELLESLAG, PM SHAH, DA STEVENS a TJ WALSH, 2002. Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **34**(1), 7–14. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/323335
- BARCHIESI, F, E ORSETTI, R GESUITA, E SKRAMI a E MANSO, 2016. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia in a tertiary referral center in Italy from 2010 to 2014. *Infection* [online]. **44**(2), 205–213. ISSN 14390973. Dostupné z: doi:10.1007/s15010-015-0845-z
- BASSETTI, M, M MERELLI, E RIGHI, A DIAZ-MARTIN, EM ROSELLO, R LUZZATI, A PARRA, EM TRECARICHI, M SANGUINETTI, B POSTERARO, J GARNACHO-MONTERO, A SARTOR, J RELLO a M TUMBARELLO, 2013. Epidemiology, Species Distribution, Antifungal Susceptibility, and Outcome of Candidemia across Five Sites in Italy and Spain. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **51**(12), 4167–4172. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.01998-13
- BASSETTI, M, M MIKULSKA a C VISCOLI, 2010. Bench-to-bedside review: Therapeutic management of invasive candidiasis in the intensive care unit. *Critical Care* [online]. **14**(6), 244. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/cc9239
- BELLANGER, AP, JP CERVONI, JF FAUCHER, D WEIL-VERHOEVEN, M GINET, E DECONINCK a F GRENOUILLET, 2017. *Paecilomyces variotii* Fungemia in a Patient with Lymphoma Needing Liver Transplant. *Mycopathologia* [online]. **182**(7–8), 761–765. ISSN 0301-486X. Dostupné z: doi:10.1007/s11046-017-0131-y
- BODDY, L, 2015. Interactions with Humans and Other Animals. In: SC WATKINSON, L BODDY a NP MONEY, ed. *The Fungi* [online]. 3rd ed. London: Elsevier, s. 293–336. ISBN 9780123820341. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-382034-1.00009-8
- BOUCHER, HW a TF PATTERSON, 2015. Aspergillosis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 129–140. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_10
- BOUTATI, EI a EJ ANAISSIE, 1997. *Fusarium*, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: ten years' experience at a cancer center and implications for management. *Blood* [online]. **90**(3), 999–1008. ISSN 0006-4971. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9242529>
- BRETAGNE, S, C RENAUDAT, M DESNOS-OLLIVIER, K SITBON, O LORTHOLARY a F DROMER, 2017. Predisposing factors and outcome of uncommon yeast species-related fungaemia based on an exhaustive surveillance programme (2002-14). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. **72**(6), 1784–1793. ISSN 14602091. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkx045

- BUCHTA, V, P HAMAL, N MALLÁTOVÁ, I KOČMANOVÁ, V CHRENKOVÁ, M ROUBALOVÁ a P OLIŠAROVÁ, 2010. Nepodkročitelné minimum. *Postgraduální medicína* [online]. (12, Příloha 5), 76–81. Dostupné z: http://www.splm.cz/dokumenty/PSM_MyMi_inv.pdf
- BUCHTA, V, V KOLÁŘ, T BERGEROVÁ, E CHMELAŘOVÁ, N MALLÁTOVÁ, B HOROVÁ, E POZLEROVÁ, M HORNÍKOVÁ, P HAMAL a S DOBIÁŠOVÁ, 1998. Výskyt potenciálně patogenních kvasinek v krvi a moči pacientů ve velkých nemocnicích v České republice. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. **4**, 10–17.
- CAGGIANO, G, C CORETTI, N BARTOLOMEO, G LOVERO, O DE GIGLIO a MT MONTAGNA, 2015. *Candida* Bloodstream Infections in Italy: Changing Epidemiology during 16 Years of Surveillance. *BioMed Research International* [online]. B.m.: Hindawi Publishing Corporation, **2015**(January 1998), 1–9. ISSN 2314-6133. Dostupné z: [doi:10.1155/2015/256580](https://doi.org/10.1155/2015/256580)
- CALVO, B, ANALY SA MELO, A PEROZO-MENA, M HERNANDEZ, EC FRANCISCO, F HAGEN, JF MEIS a AL COLOMBO, 2016. First report of *Candida auris* in America: Clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidemia. *Journal of Infection* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **73**(4), 369–374. ISSN 15322742. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jinf.2016.07.008](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.07.008)
- CASTANHEIRA, M, LM DESHPANDE, AP DAVIS, PR RHOMBERG a MA PFALLER, 2017. Monitoring Antifungal Resistance in a Global Collection of Invasive Yeasts and Molds: Application of CLSI Epidemiological Cutoff Values and Whole-Genome Sequencing Analysis for Detection of Azole Resistance in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. **61**(10), 1–20. ISSN 0066-4804. Dostupné z: [doi:10.1128/aac.00906-17](https://doi.org/10.1128/aac.00906-17)
- CHADWICK, SG, JA SCHUYLER, J-P VERMITSKY, ME ADELSON, E MORDECHAI a SE GYGAX, 2013. X-Plate Technology: A new method for detecting fluconazole resistance in *Candida* species. *Journal of Medical Microbiology* [online]. **62**, 720–726. ISSN 00222615. Dostupné z: [doi:10.1099/jmm.0.054445-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.054445-0)
- CHANDRASEKAR, P, 2009. Invasive mold infections: recent advances in management approaches. *Leukemia & Lymphoma* [online]. **50**(5), 703–715. ISSN 1042-8194. Dostupné z: [doi:10.1080/10428190902777434](https://doi.org/10.1080/10428190902777434)
- CHRDLE, A, N MALLÁTOVÁ, M VAŠÁKOVÁ, J HABER a DW DENNING, 2015. Burden of serious fungal infections in the Czech Republic. *Mycoses* [online]. **58**, 6–14. ISSN 14390507. Dostupné z: [doi:10.1111/myc.12384](https://doi.org/10.1111/myc.12384)
- CLANCY, CJ, PG PAPPAS, J VAZQUEZ, MA JUDSON, DP KONTOYIANNIS, GR THOMPSON, Kevin W. GAREY, Annette REBOLI, Richard N. GREENBERG, Senu APEWOKIN, G. Marshall LYON, Luis OSTROSKY-ZEICHNER, Alan H.B. WU, Ellis TOBIN, M. Hong NGUYEN a Angela M. CALIENDO, 2018. Detecting Infections Rapidly and Easily for Candidemia Trial, Part 2 (DIRECT2): A Prospective, Multicenter Study of the T2Candida Panel. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **66**(11), 1678–1686. ISSN 15376591. Dostupné z: [doi:10.1093/cid/cix1095](https://doi.org/10.1093/cid/cix1095)
- CLANCY, Cornelius J a M Hong NGUYEN, 2013. Finding the missing 50% of invasive candidiasis: How nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **56**(9), 1284–

1292. ISSN 10584838. Dostupné z: doi:10.1093/cid/cit006

CLEVELAND, AA, LH HARRISON, MM FARLEY, R HOLLICK, B STEIN, TM CHILLER, SR LOCKHART a BJ PARK, 2015. Declining incidence of candidemia and the shifting epidemiology of *Candida* resistance in two US metropolitan areas, 2008-2013: Results from population-based surveillance. *PLoS ONE* [online]. **10**(3), 2008–2013. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0120452

CLSI, 2017. *Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, CLSI supplement M60*. 1st ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. ISBN 1-56238-828-2.

CLSI, 2018. *Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing, CLSI guideline M59*. 2nd ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. ISBN 1-56238-840-1.

CORNELY, OA, M BASSETTI, T CALANDRA, J GARBINO, BJ KULLBERG, O LORTHOLARY, W MEERSSEMAN, M AKOVA, MC ARENDRUP, S ARIKAN-AKDAGLI, J BILLE, E CASTAGNOLA, M CUENCA-ESTRELLA, JP DONNELLY, AH GROLL, R HERBRECHT, WW HOPE, HE JENSEN, C LASS-FLÖRL, G PETRIKKOS, MD RICHARDSON, E ROILIDES, PE VERWEIJ, C VISCOLI a AJ ULLMANN, 2012. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: Non-neutropenic adult patients. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. **18**(SUPPL.7), 19–37. ISSN 14690691. Dostupné z: doi:10.1111/1469-0691.12039

CUENCA-ESTRELLA, M, PE VERWEIJ, MC ARENDRUP, S ARIKAN-AKDAGLI, J BILLE, JP DONNELLY, HE JENSEN, C LASS-FLÖRL, MD RICHARDSON, M AKOVA a M BASSETTI, 2012. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. **18**, 9–18. Dostupné z: doi:10.1111/1469-0691.12038

DATCU, R, J BOEL, IM JENSEN a M ARPI, 2017. Comparison of BACTEC™ blood culture media for the detection of fungemia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [online]. B.m.: European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, **36**(1), 131–137. ISSN 14354373. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-016-2781-y

DE CAROLIS, E, A VELLA, AR FLORIO, P POSTERARO, DS PERLIN, M SANGUINETTI a B POSTERARO, 2012. Use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for caspofungin susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* species. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **50**(7), 2479–2483. ISSN 00951137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.00224-12

DE PAUW, B, TJ WALSH, P DONNELLY, DA STEVENS, JE EDWARDS, T CALANDRA, PG PAPPAS, J MAERTENS, O LORTHOLARY, CA KAUFFMAN, DW DENNING, TF PATTERSON, G MASCHMEYER, J BILLE, WE DISMUKES, R HERBRECHT, WW HOPE, CC KIBBLER, BJ KULLBERG, KA MARR, P MUÑOZ, FC ODDS, JR PERFECT, A RESTREPO, M RUHNKE, BH SEGAL, JD SOBEL, TC SORRELL, C VISCOLI, JR WINGARD, T ZAOUTIS a JE BENNETT, 2008. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG). *Clinical Infectious Diseases* [online]. **46**(12), 1813–1821. ISSN 1537-6591.

Dostupné z: doi:10.1086/588660.Revised

DOI, AM, ACC PIGNATARI, MB EDMOND, AR MARRA, LFA CAMARGO, RA SIQUEIRA, VP DA MOTA a AL COLOMBO, 2016. Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. *PloS one* [online]. **11**(1), e0146909. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0146909

DREW, RH, 2018. Pharmacology of amphotericin B. *UpToDate* [online] [vid. 2019-06-06]. Dostupné z: https://www.uptodate-com.ezproxy.is.cuni.cz/contents/pharmacology-of-amphotericin-b?search=amphotericin-b&source=search_result&selectedTitle=2~139&usage_type=default&display_rank=1

DRGOŇA, L, J TRUPL, A ROIDOVÁ a T MARCEK, 2007. Fungaemia in Slovakia: a prospective, national study [online]. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-0691.2008.02007.x

FALCONE, M, G TISEO, C TASCINI, A RUSSO, E SOZIO, G RAPONI, C ROSIN, P PIGNATELLI, P CARFAGNA, A FARCOMENI, R LUZZATI, F VIOLI, F MENICETTI a M VENDITTI, 2017. Assessment of risk factors for candidemia in non-neutropenic patients hospitalized in Internal Medicine wards: A multicenter study. *European Journal of Internal Medicine* [online]. B.m.: European Federation of Internal Medicine, **41**, 33–38. ISSN 18790828. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejim.2017.03.005

FREIRE, FDCO a MEB DA ROCHA, 2017. Impact of Mycotoxins on Human Health. In: J-M MÉRILLON a KG RAMAWAT, ed. *Fungal Metabolites* [online]. 1st ed. Cham: Springer International Publishing Switzerland, s. 240–255. ISBN 9783319250007. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-25001-4_26

GIGLIOTTI, F a TW WRIGHT, 2015. Pneumocystosis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 169–174. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_14

GIRMENIA, C, L PAGANO, B MARTINO, D D'ANTONIO, R FANCI, G SPECCHIA, L MELILLO, M BUELLI, G PIZZARELLI, M VENDITTI a P MARTINO, 2005. Invasive Infections Caused by *Trichosporon* Species and *Geotrichum capitatum* in Patients with Hematological Malignancies: a Retrospective Multicenter Study from Italy and Review of the Literature. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **43**(4), 1818–1828. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.43.4.1818-1828.2005

GUERY, BP, MC ARENDRUP, G AUZINGER, É AZOULAY, M BORGES SÁ, EIM JOHNSON, E MÜLLER, C PUTENSEN, C ROTSTEIN, G SGANGA, M VENDITTI, R ZARAGOZA CRESPO a BJ KULLBERG, 2009. Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. *Intensive Care Medicine* [online]. **35**(2), 206–214. ISSN 03424642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-008-1339-6

GUILLAMET, CV, R VAZQUEZ, ST MICEK, O URSU a M KOLLEF, 2015. Development and validation of a clinical prediction rule for candidemia in hospitalized patients with severe sepsis and septic shock. *Journal of Critical Care* [online]. B.m.: Elsevier Inc., **30**(4), 715–720. ISSN 15578615. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcrc.2015.03.010

- GUINEA, J, 2014. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. B.m.: European Society of Clinical Infectious Diseases, **20**(6), 5–10. ISSN 14690691. Dostupné z: doi:10.1111/1469-0691.12539
- HABER, J, Z RÁČIL, J MAYER, N MALLÁTOVÁ, M KOUBA, P SEDLÁČEK, E FABER, I HEROLD, P MÚDRY, L DRGOŇA, I KOČMANOVÁ, M KARAS, V BUCHTA, J VYDRA, M KOLÁŘ, J TRUPL, V MAREŠOVÁ, H ROZSYPAL, P NÝČ a K CWIERTKA, 2008. Léčba invazivní kandidózy – doporučení odborných společností. *Vnitřní lékařství* [online]. **54**(12), 1174–1184. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2008-12/lecba-invazivni-kandidozy-doporuceni-odbornych-spolecnosti-56142>
- HAGEN, F, R HARE JENSEN, JF MEIS a MC ARENDRUP, 2016. Molecular epidemiology and in vitro antifungal susceptibility testing of 108 clinical *Cryptococcus neoformans sensu lato* and *Cryptococcus gattii sensu lato* isolates from Denmark. *Mycoses* [online]. **59**(9), 576–584. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12507
- HAMAL, P, I KOČMANOVA, A JEDLICKOVA, M HAJICKOVA, P OLISAROVA, T BERGEROVA, J HANZLICKOVA, V BUCHTA, T LAZNICKOVA, M STOLBOVA, N MALLATOVA a J DOLEZALOVA, 2007. Epidemiological analysis of candidemia in Czech Tertiary Care Hospitals in 2000–2006. *Journal of Chemotherapy*. **19 (Suppl)**(October), 61–62.
- HAMAL, P a L SVOBODOVÁ, 2011. Mykózy a antimykotika. *Interní medicína pro praxi* [online]. **13**(11), 445–449. ISSN 12127299. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2011/11/07.pdf>
- HARRINGTON, Rachel, Sylvia L. KINDERMANN, Qingjiang HOU, Robert J. TAYLOR, Nkechi AZIE a David L. HORN, 2017. Candidemia and invasive candidiasis among hospitalized neonates and pediatric patients. *Current Medical Research and Opinion* [online]. **33**(10), 1803–1812. ISSN 14734877. Dostupné z: doi:10.1080/03007995.2017.1354824
- HAWKSWORTH, DL, PW CROUS, SA REDHEAD, DR REYNOLDS, RA SAMSON, KA SEIFERT, JW TAYLOR, MJ WINGFIELD, Ö ABACI, C AIME, A ASAN, FY BAI, ZW DE BEER, D BEGEROW, D BERIKTEN, T BOEKHOUT, PK BUCHANAN, T BURGESS, W BUZINA, L CAI, PF CANNON, JL CRANE, U DAMM, HM DANIEL, AD VAN DIEPENINGEN, I DRUZHININA, PS DYER, U EBERHARDT, JW FELL, JC FRISVAD, DM GEISER, J GEML, C GLIENKE, T GRÄFENHAN, JZ GROENEWALD, M GROENEWALD, J DE GRUYTER, E GUÉHO-KELLERMANN, LD GUO, DS HIBBETT, SB HONG, GS DE HOOG, J HOUBRAKEN, SM HUHNDORF, KD HYDE, A ISMAIL, PR JOHNSTON, DG KADAIFCILER, PM KIRK, U KÖLJALG, CP KURTZMAN, PE LAGNEAU, CA LÉVESQUE, X LIU, L LOMBARD, Wi MEYER, A MILLER, DW MINTER, MJ NAJAFZADEH, L NORVELL, SM OZERSKAYA, R ÖZİÇ, SR PENNYCOOK, SW PETERSON, OV PETTERSSON, W QUAEDVLIÉ, VA ROBERT, C RUIBAL, J SCHNÜRER, HJ SCHROERS, R SHIVAS, B SLIPPERS, H SPIERENBURG, M TAKASHIMA, E TAŞKOIN, M THINES, U THRANE, AH UZTAN, M VAN RAAK, J VARGA, A VASCO, G VERKLEY, SIR VIDEIRA, RP DE VRIES, BS WEIR, N YILMAZ, A YURKOV a N ZHANG, 2011. The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. *IMA Fungus* [online]. **2**(1), 105–111. ISSN 2210-6359. Dostupné z: doi:10.5598/ima fungus.2011.02.01.14
- HESSTVEDT, L, MC ARENDRUP, E POIKONEN, L KLINGPOR, V FRIMAN, I NORDØY, V

- ÖZENCI, A KJARTANSDOTTIR, N KONDORI, L SERRANDER, K NILSSON, E TÖRNQVIST, M GRANLUND, I SJÖGREN, M JOHANSSON, AL SUNDQVIST, A NYBERG, E HÅLLDIN, C JENDLE, G KAHLMETER, P CETTNER a B CLAESSON, 2017. Differences in epidemiology of candidaemia in the Nordic countries – what is to blame? *Mycoses* [online]. **60**(1), 11–19. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12535
- HESSTVEDT, L, P GAUSTAD, CT ANDERSEN, E HAARR, R HANNULA, HH HAUKLAND, N-O HERMANSEN, KW LARSEN, H MYLVAGANAM, TE RANHEIM, P SANDVEN, I NORDØY, A KANESTRØM, C GRUB, A ONKEN, C THIELSEN, D SKAARE, S TOFTELAND, L-J SØNSTEBY, R HJETLAND, R HIDE, E VIK, A KÜMMEL a S ÅSHEIM, 2015. Twenty-two years of candidaemia surveillance: results from a Norwegian national study. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. **21**(10), 938–945. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1016/j.cmi.2015.06.008
- HORÁK, P, 2011. Specifická antimykotika a jejich použití u vybraných patologických stavů. *Interní medicína pro praxi* [online]. **13**(4), 171–175. ISSN 12127299. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/int/2011/04/06.pdf>
- HOWARD, SJ a MC ARENDRUP, 2011. Acquired antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus*: Epidemiology and detection. *Medical Mycology* [online]. **49**(SUPPL. 1), 90–95. ISSN 13693786. Dostupné z: doi:10.3109/13693786.2010.508469
- INGHAM, CJ, S BOONSTRA, S LEVELS, M DE LANGE, JF MEIS a PM SCHNEEBERGER, 2012. Rapid susceptibility testing and microcolony analysis of *Candida* spp. cultured and imaged on porous aluminum oxide. *PLoS ONE* [online]. **7**(3), 1–8. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0033818
- ISHIKANE, Masahiro, Kayoko HAYAKAWA, Satoshi KUTSUNA, Nozomi TAKESHITA a Norio OHMAGARI, 2016. Epidemiology of blood stream infection due to candida species in a tertiary care hospital in Japan over 12 years: Importance of peripheral line-associated candidemia. *PLoS ONE* [online]. **11**(10), 1–15. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0165346
- JEAN, SS, CT FANG, WY SHAU, YC CHEN, SC CHANG, PR HSUEH, CC HUNG a KT LUH, 2002. Cryptococcaemia: clinical features and prognostic factors. *QJM: An International Journal of Medicine* [online]. **95**(8), 511–518. ISSN 14602393. Dostupné z: doi:10.1093/qjmed/95.8.511
- JOHNSON, LB, SF BRADLEY a CA KAUFFMAN, 1998. Fungaemia due to *Cryptococcus laurentii* and a review of non-*neoformans* cryptococcaemia. *Mycoses* [online]. **41**(7–8), 277–280. ISSN 09337407. Dostupné z: doi:10.1111/j.1439-0507.1998.tb00338.x
- JOHNSON, RH a A HEIDARI, 2015. Coccidioidomycosis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing Switzerland, s. 205–216. Dostupné z: doi:10.1007/9783319130903_17
- KAHLMETER, G a EUCAST STEERING COMMITTEE, 2019. *Redefining susceptibility testing categories S, I and R.* [online]. Dostupné z: www.eucast.org
- KHATIB, Riad, Leonard B. JOHNSON, Mohamad G. FAKIH, Kathleen RIEDERER a Laurence BRISKI, 2016. Current trends in candidemia and species distribution among adults: *Candida glabrata* surpasses *C. albicans* in diabetic patients and abdominal

sources. *Mycoses* [online]. **59**(12), 781–786. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12531

KLINGSPOR, L, M ULLBERG, J RYDBERG, N KONDORI, L SERRANDER, J SWANBERG, K NILSSON, C JENDLE BENGTEÉN, M JOHANSSON, M GRANLUND, E TÖRNQVIST, A NYBERG, K KINDLUND, M YGGE, D KARTOUT-BOUKDIR, M TOEPFER, E HÅLLDIN, G KAHLMETER a V ÖZENCI, 2018. Epidemiology of fungaemia in Sweden: A nationwide retrospective observational survey. *Mycoses* [online]. **61**(10), 777–785. ISSN 09337407. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12816

KOCMANOVÁ, I, P LYSKOVÁ, V CHRENKOVÁ, P OLIŠAROVÁ, R DOBIÁŠ, H JANOUŠKOVCOVÁ, H SOUKUPOVÁ, N MALLÁTOVÁ, L SVOBODOVÁ, P HAMAL, M SKRUŽNÁ a N BARTONÍKOVÁ, 2018. Nozokomiální kandidémie v České republice v letech 2012 – 2015 : výsledky mikrobiologické multicentrické studie. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* [online]. **67**(1), 3–10. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/2018-1-12/nozokomialni-kandidemie-v-ceske-republice-v-letech-2012-2015-vysledky-mikrobiologicke-multicentricke-studie-63466>

KOEHLER, P, D TACKE a OA CORNELLY, 2014. Our 2014 approach to candidaemia. *Mycoses* [online]. **57**(10), 581–583. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12207

KRČMÉRY, V a G KOVAČIČOVÁ, 2000. Longitudinal 10-year prospective survey of fungaemia in Slovak Republic: Trends in etiology in 310 episodes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. **36**(1), 7–11. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/S0732-8893(99)00096-6

KULLBERG, BJ a MC ARENDRUP, 2015. Invasive Candidiasis. *New England Journal of Medicine* [online]. **373**(15), 1445–1456. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1315399

LAI, CC, CY WANG, WL LIU, YT HUANG a PR HSUEH, 2012. Time to positivity of blood cultures of different *Candida* species causing fungaemia. *Journal of Medical Microbiology* [online]. **61**(Pt_5), 701–704. ISSN 0022-2615. Dostupné z: doi:10.1099/jmm.0.038166-0

LEE, WG, JH SHIN, Y UH, MG KANG, SH KIM, KH PARK a HC JANG, 2011. First three reported cases of nosocomial fungemia caused by *Candida auris*. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **49**(9), 3139–3142. ISSN 00951137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.00319-11

LEÓN, C, S RUIZ-SANTANA, P SAAVEDRA, B ALMIRANTE, J NOLLA-SALAS, F ÁLVAREZ-LERMA, J GARNACHO-MONTERO a MÁ LEÓN, 2006. A bedside scoring system (“Candida score”) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Critical Care Medicine* [online]. **34**(3), 730–737. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/01.CCM.0000202208.37364.7D

LEWIS, RE a AW FOTHERGILL, 2015. Antifungal Agents. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 79–97. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_7

- LI, Y, M DU, L CHEN, Y LIU a Z LIANG, 2016. Nosocomial Bloodstream Infection Due to *Candida* spp. in China: Species Distribution, Clinical Features, and Outcomes. *Mycopathologia* [online]. **181**(7–8), 485–495. ISSN 0301-486X. Dostupné z: doi:10.1007/s11046-016-9997-3
- LIN, S, R CHEN, S ZHU, H WANG, L WANG, J ZOU, J YAN, X ZHANG, D FARMAKIOTIS, X TAN a E MYLONAKIS, 2018. Candidemia in Adults at a Tertiary Hospital in China: Clinical Characteristics, Species Distribution, Resistance, and Outcomes. *Mycopathologia* [online]. **183**(4), 679–689. ISSN 0301-486X. Dostupné z: doi:10.1007/s11046-018-0258-5
- LIN, YY, S SHIAU a CT FANG, 2015. Risk Factors for Invasive *Cryptococcus neoformans* Diseases: A Case-Control Study. *PLOS ONE* [online]. **10**(3), e0119090. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0119090
- LOCKHART, SR, MA GHANNOUM a BD ALEXANDER, 2017. Establishment and Use of Epidemiological Cutoff Values for Molds and Yeasts by Use of the Clinical and Laboratory Standards Institute M57 Standard. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **55**(5), 1262–1268. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/jcm.02416-16
- LORTHOLARY, O, C RENAUDAT, K SITBON, Y MADEC, L DENOEU-NDAM, M WOLFF, A FONTANET, S BRETAGNE, F DROMER, C BOUGES-MICHEL, I POILANE, J DUNAN, G GALEAZZI, A ALANIO, F FOULET, N FAUCHET, E FORGET, C LAWRENCE, A ANGOULVANT, C BONNAL, C HENNEQUIN, F BOTTEREL, O ELOY, MF DAVID, N KHASSIS, L MILHAILA, E CHACHATY, C CHOCHILLON, F LESLE, A PAUGAM, MT BAIXENCH, MC ESCANDE, M CORNET, ME BOUGNOUX, Y STERCKERS, S CHALLIER, E DANNAOUI, V LAVARDE, A DATRY, BL MIMOUNI, S BRUN, A FEKKAR, J GUITARD, JL POIROT, C LACROIX, D MOISSENET, M DEVELOUX, P MARIANI, S BONACORSI, M DESNOS-OLLIVIER, D GARCIA-HERMOSO, D HOINARD a D RAOUX, 2014. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002-2010). *Intensive Care Medicine* [online]. **40**(9), 1303–1312. ISSN 14321238. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-014-3408-3
- LORTHOLARY, Olivier, Charlotte RENAUDAT, Karine SITBON, Marie DESNOS-OLLIVIER, Stéphane BRETAGNE a Françoise DROMER, 2017. The risk and clinical outcome of candidemia depending on underlying malignancy. *Intensive Care Medicine* [online]. **43**(5), 652–662. ISSN 14321238. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-017-4743-y
- MALLÁTOVÁ, P HAMAL, I KOČMANOVÁ a V BUCHTA, 2011. Testování citlivosti mikromycet k antimykotikům in vitro u imunosuprimovaných pacientů – doporučení odborníků s podporou CELL a SLM ČLS JEP - ZDN. *Postgraduální medicína* [online]. **13**, 51–65. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/testovani-citlivosti-mikromycet-k-antimykotikum-in-vitro-u-imunosuprimovanych-pacientu-doporuceni-odborniku-s-podporou-cell-a-slm-cls-jep-462246>
- MARCOS-ZAMBRANO, LJ, P ESCRIBANO, C SÁNCHEZ, P MUÑOZ, E BOUZA a J GUINEA, 2014. Antifungal resistance to fluconazole and echinocandins is not emerging in yeast isolates causing fungemia in a Spanish tertiary care center. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. **58**(8), 4565–4572. ISSN 10986596. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.01101-16

- MARINACH, C, A ALANIO, M PALOUS, S KWASEK, A FEKKAR, JY BROSSAS, Sophie BRUN, Georges SNOUNOU, Christophe HENNEQUIN, Dominique SANGLARD, Annick DATRY, Jean Louis GOLMARD a Dominique MAZIER, 2009. MALDI-TOF MS-based drug susceptibility testing of pathogens: The example of *Candida albicans* and fluconazole. *Proteomics* [online]. **9**(20), 4627–4631. ISSN 16159853. Dostupné z: doi:10.1002/pmic.200900152
- MARTIN-LOECHES, I, M ANTONELLI, M CUENCA-ESTRELLA, G DIMOPOULOS, S EINAV, JJ DE WAELE, J GARNACHO-MONTERO, SS KANJ, FR MACHADO, P MONTRAVERS, Y SAKR, M SANGUINETTI, JF TIMSIT a M BASSETTI, 2019. ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Medicine* [online]. B.m.: Springer Berlin Heidelberg, **45**(6), 789–805. ISSN 14321238. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-019-05599-w
- MAZIARZ, EK a JR PERFECT, 2015. Cryptococcosis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 175–193. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_15
- MEHTA, SR, S JOHNS, P STARK a J FIERER, 2017. Successful treatment of *Aureobasidium pullulans* central catheter-related fungemia and septic pulmonary emboli. *IDCases* [online]. **10**, 65–67. ISSN 22142509. Dostupné z: doi:10.1016/j.idcr.2017.08.017
- MICELI, MH, JA DÍAZ a SA LEE, 2011. Emerging opportunistic yeast infections. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **11**(2), 142–151. ISSN 14733099. Dostupné z: doi:10.1016/S1473-3099(10)70218-8
- MONEY, NP, 2015a. Fungal diversity. In: Sarah C WATKINSON, Lynne BODDY a Nicholas P MONEY, ed. *The Fungi* [online]. 3rd ed. London: Elsevier Ltd., s. 1–36. ISBN 9781420009538. Dostupné z: doi:10.1201/9781420009538
- MONEY, NP, 2015b. Fungal Cell Biology and Development. In: SC WATKINSON, L BODDY a NP MONEY, ed. *The Fungi* [online]. 3rd ed. London: Elsevier, s. 37–66. ISBN 9780123820341. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-382034-1.00002-5
- NAWROT, U, M PAJĄCZKOWSKA, M FLEISCHER, H PRZONDO-MORDARSKA, A SAMET, D PIASECKA-PAZIK, J KOMARNICKA, B SULIK-TYSZKA, E SWOBODA-KOPEĆ, JA CIEŚLIK, A MIKUCKA, E GOSPODAREK, T OZOROWSKI, A MÓL, E TRYNISZEWSKA, W KŁOSOWSKA, M KRAWCZYK, K GOLEC, L SZYMANIAK, S GIEDRYS-KALEMBA, I BILSKA, J PRAWDA-ZOŁOTAR, M JUSZCZYK-GRUDZIŃSKA, M WRÓBLEWSKA a K BURDYNOWSKI, 2013. Candidaemia in polish hospitals - a multicentre survey. *Mycoses* [online]. **56**(5), 576–581. ISSN 09337407. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12077
- NEELY, L. A., M. AUDEH, N. A. PHUNG, M. MIN, A. SUCHOCKI, D. PLOURDE, M. BLANCO, V. DEMAS, L. R. SKEWIS, T. ANAGNOSTOU, J. J. COLEMAN, P. WELLMAN, E. MYLONAKIS a T. J. LOWERY, 2013. T2 Magnetic Resonance Enables Nanoparticle-Mediated Rapid Detection of Candidemia in Whole Blood. *Science Translational Medicine* [online]. **5**(182), 182ra54–182ra54. ISSN 1946-6234. Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.3005377
- NISHIMORI, M, T TAKAHASHI, E SUZUKI, T KODAKA, N HIRAMOTO, K ITOH, H TSUNEMINE, K YARITA, K KAMEI, H TAKEGAWA a T TAKAHASHI, 2014. Fatal Fungemia with *Scedosporium prolificans* in a Patient with Acute Myeloid Leukemia. *Medical Mycology Journal* [online]. **55**(4), E63–E70. ISSN 2185-6486. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12077

z: doi:10.3314/mmj.55.E63

O'TOOLE, MT, 2017. *Mosby's Medical Dictionary* [online]. 10th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Inc. ISBN 978-0-323-41425-8. Dostupné

z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=1239147&site=ehost-live>

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, M, A SPILIOPOULOU, F KOLONITSIOU, C BARTZAVALI, A LAMBROPOULOU, P XAPLANTERI, ED ANASTASSIOU, M MARANGOS, I SPILIOPOULOU a M CHRISTOFIDOU, 2019. Increasing incidence of candidaemia and shifting epidemiology in favor of *Candida non-albicans* in a 9-year period (2009–2017) in a university Greek hospital. *Infection* [online]. B.m.: Springer Berlin Heidelberg, **47**(2), 209–216. ISSN 14390973. Dostupné z: doi:10.1007/s15010-018-1217-2

PAPPAS, PG, CA KAUFFMAN, DR ANDES, CJ CLANCY, KA MARR, L OSTROSKY-ZEICHNER, AC REBOLI, MG SCHUSTER, JA VAZQUEZ, TJ WALSH, TE ZAOUTIS a JD SOBEL, 2016. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **62**(4), e1–e50. ISSN 15376591. Dostupné z: doi:10.1093/cid/civ933

PERFECT, JR, WE DISMUKES, F DROMER, DL GOLDMAN, JR GRAYBILL, RJ HAMILL, TS HARRISON, RA LARSEN, O LORTHOLARY, M-H NGUYEN, PG PAPPAS, WG POWDERLY, N SINGH, JD SOBEL a TC SORRELL, 2010. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **50**(3), 291–322. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/649858

PERKHOFER, S, C MRAZEK, L HARTL a C LASS-FLÖRL, 2010. In vitro susceptibility testing in fungi: What is its role in clinical practice? *Current Infectious Disease Reports* [online]. **12**(6), 401–408. ISSN 15233847. Dostupné z: doi:10.1007/s11908-010-0134-z

PERLIN, DS, R RAUTEMAA-RICHARDSON a A ALASTRUEY-IZQUIERDO, 2017. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, **17**(12), e383–e392. ISSN 14744457. Dostupné z: doi:10.1016/S1473-3099(17)30316-X

PFALLER, MA, DJ DIEKEMA, DL GIBBS, VA NEWELL, D ELLIS, V TULLIO, A RODLOFF, W FU a TA LING, 2010. Results from the artemis disk global antifungal surveillance study, 1997 to 2007: A 10.5-year analysis of susceptibilities of candida species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **48**(4), 1366–1377. ISSN 00951137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.02117-09

PFEIFFER, CD, GP SAMSA, WA SCHELL, LB RELLER, JR PERFECT a BD ALEXANDER, 2011. Quantitation of *Candida* CFU in Initial Positive Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **49**(8), 2879–2883. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.00609-11

PFEIFFER, CD a B WONG, 2015. Diagnostic Immunology. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 45–64. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_5

- PITTET, D, M MONOD, PM SUTER, E FRENK a R AUCKENTHALER, 1994. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Annals of Surgery* [online]. **220**(6), 751–758. ISSN 00034932. Dostupné z: doi:10.1097/00000658-199412000-00008
- POSTERARO, B a M SANGUINETTI, 2014. The future of fungal susceptibility testing. *Future Microbiology* [online]. **9**(8), 947–967. ISSN 17460921. Dostupné z: doi:10.2217/fmb.14.55
- PRIGITANO, A, C CAVANNA, M PASSERA, C OSSI, E SALA, G LOMBARDI, A GRANCINI, C DE LUCA, S BRAMATI, M GELMI, M TEJADA, R GRANDE, C FARINA, F LALLITTO a AM TORTORANO, 2016. CAND-LO 2014–15 study: changing epidemiology of candidemia in Lombardy (Italy). *Infection* [online]. **44**(6), 765–780. ISSN 14390973. Dostupné z: doi:10.1007/s15010-016-0951-6
- PRIN, M a H WUNSCH, 2012. International comparisons of intensive care. *Current Opinion in Critical Care* [online]. **18**(6), 700–706. ISSN 1070-5295. Dostupné z: doi:10.1097/mcc.0b013e32835914d5
- REICHERT-LIMA, F, L LYRA, L PONTES, ML MORETTI, CD PHAM, SR LOCKHART a AZ SCHREIBER, 2018. Surveillance for azoles resistance in *Aspergillus* spp. highlights a high number of amphotericin B-resistant isolates. *Mycoses* [online]. **61**(6), 360–365. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12759
- RESTREPO, AM, AM TOBÓN OROZCO, BL GÓMEZ a G BENARD, 2015. Paracoccidioidomycosis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing Switzerland, s. 225–236. Dostupné z: doi:10.1007/9783319130903_18
- ROMANELLI, AM a BL WICKES, 2015. Diagnostic Molecular Biology. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 25–36. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_3
- ROY, U, LG JESSANI, SM RUDRAMURTHY, R GOPALAKRISHNAN, S DUTTA, C CHAKRAVARTY, J JILLWIN a A CHAKRABARTI, 2017. Seven cases of *Saccharomyces* fungaemia related to use of probiotics. *Mycoses* [online]. **60**(6), 375–380. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12604
- ROZSYPAL, H, 2008. Systémová antimykotika. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. **22**(1), 40–44. ISSN 1212-7973. Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2008/01/09.pdf>
- SANGUINETTI, M a B POSTERARO, 2018. Susceptibility testing of fungi to antifungal drugs. *Journal of Fungi* [online]. **4**(3), 1–16. ISSN 2309608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof4030110
- SARACLI, MA, AW FOTHERGILL, DA SUTTON a NP WIEDERHOLD, 2015. Detection of triazole resistance among *Candida* species by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Medical Mycology* [online]. **53**(7), 736–742. ISSN 14602709. Dostupné z: doi:10.1093/mmy/myv046
- SIMON-NOBBE, B, U DENK, V PÖLL, R RID a M BREITENBACH, 2008. The spectrum of

- fungal allergy. *International archives of allergy and immunology* [online]. **145**(1), 58–86. ISSN 14230097. Dostupné z: doi:10.1159/000107578
- SOBEL, JD, 2015. Candidiasis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing Switzerland, s. 101–117. ISBN 9783319130903. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_8
- SOCIAL SCIENCE STATISTICS, 2020a. *Fisher Exact Test Calculator* [online] [vid. 2020-04-25]. Dostupné z: <https://www.socscistatistics.com/tests/fisher/default2.aspx>
- SOCIAL SCIENCE STATISTICS, 2020b. *Mann-Whitney U Test Calculator* [online] [vid. 2020-04-25]. Dostupné z: <https://www.socscistatistics.com/tests/mannwhitney/default.aspx>
- STUČHLÍK, D, 2007. Dermatomykózy. *Interní medicína pro praxi* [online]. **4**(7–8), 320–324. ISSN 12127299. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/artkey/int-200806-0010.php>
- SULLIVAN, DC a RL NOLAN III, 2015. Blastomycosis. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing Switzerland, s. 195–204. Dostupné z: doi:10.1007/9783319130903_16
- SUTTON, DA, 2015. Basic Mycology. In: DR HOSPENTHAL a MG RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, s. 11–23. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-13090-3_2
- TADEC, L, JP TALARMIN, T GASTINNE, C BRETONNIÈRE, M MIEGEVILLE, P LE PAPE a F MORIO, 2016. Epidemiology, risk factor, species distribution, antifungal resistance and outcome of Candidemia at a single French hospital: A 7-year study. *Mycoses* [online]. **59**(5), 296–303. ISSN 14390507. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12470
- TAFIN, UF, M CLAUSS, PM HAUSER, J BILLE, JF MEIS a A TRAMPUZ, 2012. Isothermal microcalorimetry: a novel method for real-time determination of antifungal susceptibility of *Aspergillus* species. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. B.m.: European Society of Clinical Infectious Diseases, **18**(7), E241–E245. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-0691.2012.03854.x
- TAKEMURA, H, H OHNO, I MIURA, T TAKAGI, T OHYANAGI, H KUNISHIMA, A OKAWARA, Y MIYAZAKI a H NAKASHIMA, 2015. The first reported case of central venous catheter-related fungemia caused by *Cryptococcus liquefaciens*. *Journal of Infection and Chemotherapy* [online]. **21**(5), 392–394. ISSN 1341321X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiac.2014.11.007
- TAN, GSE a LY HSU, 2018. Overview of Fungal Infections. In: CA MCQUEEN, ed. *Reference Module in Biomedical Sciences* [online]. B.m.: Elsevier. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.98320-X
- TAN, TY, LY HSU, MM ALEJANDRIA, R CHAIWARITH, T CHINNIAH, M CHAYAKULKEEREE, S CHOUDHURY, YH CHEN, JH SHIN, P KIRATISIN, M MENDOZA, K PRABHU, K SUPPARATPINYO, AL TAN, XT PHAN, TTN TRAN, GB NGUYEN, MP DOAN, VA HUYNH, SMT NGUYEN, TB TRAN a H VAN PHAM, 2016. Antifungal susceptibility of invasive *Candida* bloodstream isolates from the Asia-Pacific region. *Medical Mycology* [online].

B.m.: Taylor and Francis Ltd, **54**(5), 471–477. ISSN 14602709. Dostupné z: doi:10.1093/mmy/myv114

TISSOT, Frederic, Samir AGRAWAL, Livio PAGANO, Georgios PETRIKKOS, Andreas H. GROLL, Anna SKIADA, Cornelia LASS-FLÖRL, Thierry CALANDRA, Claudio VISCOLI a Raoul HERBRECHT, 2017. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica* [online]. **102**(3), 433–444. ISSN 15928721. Dostupné z: doi:10.3324/haematol.2016.152900

TORTORANO, AM, J PEMAN, H BERNHARDT, L KLINGSPOR, CC KIBBLER, O FAURE, E BIRAGHI, E CANTON, K ZIMMERMANN, S SEATON a R GRILLOT, 2004. Epidemiology of candidaemia in Europe: Results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [online]. **23**(4), 317–322. ISSN 09349723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-004-1103-y

TROUVÉ, C, S BLOT, MP HAYETTE, S JONCKHEERE, S PATTEET, H RODRIGUEZ-VILLALOBOS, F SYMOENS, E VAN WIJNGAERDEN a K LAGROU, 2017. Epidemiology and reporting of candidaemia in Belgium: a multi-centre study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [online]. B.m.: Springer Verlag, **36**(4), 649–655. ISSN 14354373. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-016-2841-3

ÚZIS ČR, 2018. *Hospitalizovaní v nemocnicích ČR 2017* [online] [vid. 2019-07-25]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/publikace/hospitalizovani-v-nemocnicich-cr-2017>

VAN DER LINDEN, JWM, MC ARENDRUP, A WARRIS, K LAGROU, H PELLOUX, PM HAUSER, E CHRYSANTHOU, E MELLADO, SE KIDD, AM TORTORANO, E DANNAOUI, P GAUSTAD, JW BADDLEY, A UEKÖTTER, C LASS-FLÖRL, N KLIMKO, CB MOORE, DW DENNING, AC PASQUALOTTO, C KIBBLER, S ARIKAN-AKDAGLI, D ANDES, J MELETIADIS, L NAUMIUK, M NUCCI, WJG MELCHERS a PE VERWEIJ, 2015. Prospective multicenter international surveillance of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Emerging Infectious Diseases* [online]. **21**(6), 1041–1044. ISSN 10806059. Dostupné z: doi:10.3201/eid2106.140717

VASCONCELOS JÚNIOR, AA, EA MENEZES, FA CUNHA, MCSO CUNHA, BHL BRAZ, LG CAPELO a CLF SILVA, 2012. Comparação entre microdiluição e disco difusão para o teste de susceptibilidade aos antifúngicos contra *Candida* spp. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* [online]. **33**(1), 135–142. ISSN 1679-0367. Dostupné z: doi:10.5433/1679-0367.2012v33n1p135

VOTAVA, M, P ONDROVČÍK a M DVOŘÁČKOVÁ, 2003. Obecná a speciální mykologie. In: *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1st ed. Brno: Neptun, s. 209–234. ISBN 80-902896-6-5.

WEISS, SJ, PE SCHOCH a BA CUNHA, 1991. *Malassezia furfur* fungemia associated with central venous catheter lipid emulsion infusion. *Heart & lung: the journal of critical care* [online]. **20**(1), 87–90. ISSN 0147-9563. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1988397>

WELSH, O a GM GONZALEZ, 2015. Dermatophytosis (Tinea) and Other Superficial Fungal Infections. In: Duane R HOSPENTHAL a Michael G RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd vyd. Cham: Springer International

Publishing Switzerland, s. 245–260. ISBN 9783319130903. Dostupné z: doi:10.1007/9783319130903

WHEAT, LJ a CA HAGE, 2015. Histoplasmosis. In: Duane R HOSPENTHAL a Michael G RINALDI, ed. *Diagnosis and Treatment of Fungal Infections* [online]. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing Switzerland, s. 217–224. ISBN 9783319130903. Dostupné z: doi:10.1007/9783319130903_18

WISPLINGHOFF, H, T BISCHOFF, SM TALLENT, H SEIFERT, RP WENZEL a MB EDMOND, 2004. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **39**(3), 309–317. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/421946