

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biologických a lékařských věd

Epidemiologie mykotických infekcí v nemocničním prostředí

Bakalářská práce

Hradec Králové, 2006

Andrea Kargerová

Ráda bych poděkovala svému konzultantovi Doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi za odborné vedení a ochotnou pomoc při vypracování bakalářské práce.

1 Obsah

1	Obsah.....	3
2	Úvod.....	4
3	Charakteristika hub.....	5
	3.1 Rozmnožování.....	6
	3.2 Systém lékařsky významných hub.....	7
4	Onemocnění vyvolané houbami.....	8
	4.1 Mykózy.....	8
	4.2 Humánně patogenní houby.....	9
5	Nozokomiální nákazy.....	12
	5.1 Patofysiologie.....	12
	5.2 Faktory předurčující vznik nozokomiálních nákaz.....	13
	5.3 Význam a důsledky nozokomiálních nákaz.....	14
	5.4 Původci nozokomiálních nákaz:.....	14
	5.5 Nozokomiální nákazy v hematologii.....	14
	5.6 Nozokomiální nákazy na jednotce intenzivní péče.....	15
	5.7 Vybrané skupiny nozokomiálních nákaz.....	16
6	Mykologické vyšetření.....	17
	6.1 Mikroskopie.....	17
	6.2 Kultivace.....	17
	6.3 Identifikace.....	17
7	Testování citlivosti k antifungálním látkám <i>in vitro</i>	20
	7.1 Difúzní agarová disková metoda.....	20
	7.2 Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC).....	20
	7.3 Stanovení minimální fungicidní koncentrace (MFC).....	20
8	Epidemiologie mykotických infekcí.....	21
	8.1 Epidemický proces:.....	21
	8.2 Epidemiologie mykotických onemocnění člověka.....	22
9	Literatura.....	26

2 Úvod

V posledních několika desetiletích značně vzrostl výskyt život ohrožujících systémových infekcí, vyvolaných oportunními houbami, především rodu *Candida* a *Aspergillus*. Infekce jsou rozšířeny po celém světě a představují dnes jedno z největších rizik pro řadu hospitalizovaných pacientů. Dochází k nim hlavně u nemocných s defekty imunity, u nemocných, kteří jsou oslabeni podáváním imunosupresivních a cytostatických léků a širokospektrých antibiotik.

Zavedení kardiální chirurgie, používání dlouhodobých nebo trvalých protéz, vývoj transplantátů a štěpů a průnik mikroorganismů do krevního řečiště prostřednictvím trvalých katétrů a infúzních jehel značně rozšířilo počet jedinců vnímavých k vážným mykotickým infekcím.

Cílem bakalářská práce je podat přehled hlavních mykotických původců se zaměřením na jejich epidemiologii.

3 Charakteristika hub

Říše hub zahrnuje eukaryotní organismy, dříve spadající do říše rostlin. Některé vlastnosti hub vedly k tomu, že byly z rostlinné říše vyčleněny a nyní tvoří samostatný taxonomický celek. Pro houby mikroskopických rozměrů se v praxi vžil název mikromycety (Votava, 2001).

Od rostlin se houby odlišují nepřítomností chlorofylu a tím neschopností fotosyntézy. Jsou to tedy organismy většinou saprofytické. Dále se liší v tom, že většina z nich ve své stěně obsahuje chitin, popř. některé chitosan (Mucorales), manany a glukany.

Třetí důležitou vlastností buněk mikromycet je přítomnost sterolů v cytoplasmatické membráně, které jsou nezbytné pro život houbové buňky. Právě na biosyntézu ergosterolu působí většina klinicky používaných antimykotik.

Čtvrtým charakteristickým rysem mikromycet je jejich schopnost střídat pohlavní a nepohlavní způsob rozmnožování. U některých rodů mikromycet nebyla dosud pohlavní stadia objevena. Takové houby jsou prozatímně soustředěny do nesourodé skupiny zvané Fungi imperfecti neboli deuteromycety.

Houby se dělí do dvou skupin: plísně a kvasinky.

Plísně jsou vláknité neboli myceliální houby, složené z větvených vláken, nazývaných hyfy, které rostou ve vrcholové části a vytvářejí spletitou hmotu - mycelium (podhoubí). Mycelium může být dvojího typu: vegetativní, ukotvující houbu v substrátu, a generativní čili vzdušné, nesoucí rozmnožovací struktury houby. Ty mohou být pohlavní nebo nepohlavní.

Kvasinky jsou většinou jednobuněčné. Většina z nich se množí nepohlavně, procesem označovaným jako pučení. Některé kvasinky vytvářejí pseudomycelium, což jsou řetízky prodloužených buněk, které se podobají pravému myceliu plísní. Některé druhy vytvářejí také pravé mycelium.

Dimorfní houby rostou buď ve fázi myceliální nebo v kvasinkovém stadiu, a to podle růstových podmínek. Mnohé houby, které jsou pro člověka patogenní, jsou dimorfní povahy.

3.1 Rozmnožování

Houby se rozmnožují obvykle jednobuněčnými, vzácněji vícebuněčnými spory.

Pro sexuální rozmnožovací tělíska hub je používán termín spora, kdežto pro vegetativní reprodukční částice se užívá označení konidie.

Spory dělíme na pohlavní a nepohlavní. Aby bylo možno příslušnou houbu zařadit podle botanického systému, musíme znát její pohlavní spory. U eumycet, u nichž tyto spory známy nejsou, zařazujeme příslušný druh aspoň prozatímne mezi imperfektní houby.

Mezi pohlavní rozmnožovací elementy patří zejména askospory (tvořící se uvnitř vřecka – ascus), bazidiospory (vznikající zevně na sloupečkovitých, většinou kyjovitých útvech – bazidiích), oospory (tvořící se splynutím drobné spermiové buňky s větší buňkou vaječnou) a zygospory (vznikající splynutím dvou stejných buněk). Nepohlavních reprodukčních tělísek je daleko víc, což odpovídá skutečnosti, že tento způsob množení u mikromycet převládá. U eumycet se nepohlavní spory nazývají konidie. Konidie se vytvářejí na vláknecích, kterým se říká konidiofory.

U zygomycet vznikají na konci vzdušných hyf vakovité útvary zvané sporangia naplněné sporangiosporami. Hyfy, které nesou sporangia, se nazývají sporangiofory.

Vedle těchto spor, vznikajících jen na vzdušných hyfách, známe spory tvořící se jak na vzdušném, tak často i na bazálním mycéliu. Jsou to thallospory, které slouží k uchování organismu za nepříznivých podmínek. Vyskytují se v několika typech, např. artrospory, chlamydospory.

Sexuální reprodukce, na rozdíl od asexuální, zahrnuje spojení dvou jader, které je následované meiosou. Tímto sexuálním procesem vznikají spory a to endospory nebo exospory, podle toho zda jsou uvnitř specializovaných orgánů (askospory) nebo vně (basidiospory).

Výsledkem asexuální reprodukce mohou být endospory (sporangiospory) nebo exospory (konidie).

3.2 Systém lékařsky významných hub

Eumycota (pravé houby)

- Zygomycota – houby spájkivé
 - Mucorales - *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*
 - Entomophthorales
- Ascomycota – houby vřeckovýtrusé
 - *Talaromyces*, *Eurotium*, *Arthroderma*, *Saccharomyces*,
Claviceps
- Basidiomycota – stopkovýtrusé houby
 - Agaricales – *Amanita*, *Boletus*, *Inocybe*, *Tricholoma*
- Fungi imperfecti (Deuteromycetes)
 - Blastomycetes – *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*,
Rhodotorula, *Trichosporon*
 - Hyphomycetes – *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Epidermophyton*,
Microsporum, *Penicillium*, *Trichophyton*

4 Onemocnění vyvolané houbami

Chorobné stavy vyvolávané houbami, nebo podmíněné jejich přítomností v prostředí, představují velmi pestrou a různorodou skupinu. Obvykle je dělíme do čtyř základních skupin: mykózy, mykotoxikózy, mykoalergie a mycetizmy.

Jako mykózy označujeme pravá infekční onemocnění vyvolávaná většinou mikromycetami.

Mykotoxikózy jsou otravy toxiny nebo jinými toxickými látkami sekundárního metabolismu hub

Termínem mykoalergie označujeme stavy přecitlivělosti na některé metabolické produkty a na některé hmotné částice houbového původu. Nejčastěji se jedná o různé typy spor.

Mycetizmy jsou alimentární otravy následkem požití plodnic vyšších hub a intoxikací jejich toxiny. Původci patří většinou mezi jedovaté stopkovýtrusé houby (Basidiomycetes).

4.1 Mykózy

Mykózy představují široké spektrum onemocnění, lišících se etiologií, patogenetickými mechanismy, lokalizací i zeměpisným rozšířením.

Rozdělení mykóz a jejich původců je možné podle několika hledisek. Jako nejjednodušší se jeví rozdělení na: povrchové, subkutánní a systémové mykózy.

4.1.1 Povrchové mykózy

Superficiální (kožní) mykózy jsou vyvolány houbami, které se množí pouze v keratinových vrstvách kůže a jejich adnex (vlasy, nehty), ale nepronikají do hlubších tkání. Nejvýznamnějšími patogeny jsou dermatofyty: *Trichophyton*, *Microsporum* a *Epidermophyton* (Bednář, 1994).

4.1.2 Podkožní mykózy

Jsou vyvolávány houbami, které jsou málo invazivní a onemocnění vzniká jen tehdy, jsou-li zaneseny do tkáně např. poraněním. Podkožní mykózy se vyskytují především v tropických a subtropických oblastech.

4.1.3 Systémové (hluboké, viscerální, orgánové) mykózy

Onemocnění postihující jeden nebo více orgánů, která mohou přejít i do septického stavu, zejména u imunoalterovaných pacientů.

Mezi nejčastěji s vyskytující systémové mykózy patří kandidóza, aspergilóza, kryptokokóza a mukormykóza.

4.2 Humánně patogenní houby

4.2.1 Rod *Candida*

Candida je organismus, vyvolávající onemocnění i u lidí. Rostoucí problém systémové kandidózy a kandidózy sliznic se odráží jak v ohromném nárůstu počtu pacientů v ohrožení, tak i příznivější prostředí pro kandidu, která pak napadá tkáň jindy odolné proti této invazi. Tato kvasinka se nachází ve střevech, pohlavním ústrojí, ústech, jícnu a krku. Za normálního stavu je organismus schopen její množství kontrolovat. Přemnožení způsobuje oslabený imunitní systém, užívání antikoncepčních pilulek, antibiotik, stres, špatná výživa, nadměrné množství cukru, alkoholu, léků a drog. Jakmile se kvasinky jednou v organismu usadí, je těžké se jich zbavit.

Příznaky vulvovaginální kandidózy jsou bílý, sýrovitý výtok z pohlavních orgánů, svědění. Vedle toho opakující se záněty dělohy a záněty močového měchýře, poruchy menstruace, menstruační křeče, povleklý jazyk, velká únava nezjištěných příčin, silná chuť na cukr nebo pečivo. Na kůži pozorujeme šupinaté ekzémy, svědění pokožky, plísňová onemocnění kůže a nehtů, padání vlasů, lupy, lupénka. Mezi další příznaky patří zápach z úst, tvorba aftů, potíže při polykání, nadýmání, průjmy nebo naopak zácpy, pálení a svědění konečníku, nevolnost, točení hlavy, závratě, bolest svalů i při malé aktivitě, zduřelé uzliny, nízký či vysoký krevní tlak, změny nálad, apatie.

Bylo popsáno kolem 150 druhů *Candida*, avšak jen některé z nich jsou častějšími lidskými patogeny. Nejčastěji prokazovaným agens všech forem kandidových infekcí je *C. albicans* (Haber, 1995).

Mikroskopický vzhled *C. albicans* závisí na charakteru prostředí, v němž se nalézá, např. na typu kultivačního média. Je schopna tvořit blastokonidie, hyfy, pseudohyfy, chlamydokonidie a zárodečné klíčky.

Charakteristickou vlastností *C. albicans* je schopnost germinace – tvorba tzv. zárodečných hyf. Jsou to jemná vlákénka, která vyrůstají z blastokonidií jak *in vitro*, tak *in vivo*. Za určitých podmínek tvoří *C. albicans* rezistentní kulaté, tlustostěnné buňky – chlamydospory, umístěné na koncích nebo po stranách hyf.

Mezi další druhy rodu *Candida*, označované termínem *Candida non - albicans*, patří *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. kefyr*.

4.2.2 Rod *Cryptococcus*

Kryptokokóza je akutní nebo chronické onemocnění probíhající nejčastěji jako pomalu progredující meningitis, ale objevují se i plicní a kožní formy. Onemocnění postihuje i psy kočky, dobytek a některá divoká zvířata.

Původcem onemocnění je nejčastěji *Cryptococcus neoformans*, který netvoří pseudofyfy. Buňky jsou kulovité a na povrchu mají široké hlenovité pouzdro. Pouzdro chrání kryptokoka proti zevním vlivům a zejména proti fagocytóze.

C. neoformans se vyskytuje jako saprofyt v půdě, na rostlinách a velmi často na zvířecích hostitelích. Častým rezervoárem a zdrojem infekce jsou ptačí hnízdiště a trus. Infekce člověka vzniká převážně inhalací neopouzdrěné houby, někdy i kůží.

4.2.3 Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* zahrnuje především velmi rychle rostoucí mikromycety, které tvoří plně vybarvené kolonie od tří do pěti dnů inkubace. Chmýřité kolonie jsou zbarveny podle barvy mikrokonidií žlutě, šedozeleně, černě...

Mikroskopicky u aspergilů pozorujeme septované hyfy a hlavice s konidiami. Celek může připomínat kropící konev, odtud český botanický název aspergilů kropidlák.

V současné době je popsáno několik set druhů, ale jenom kolem dvaceti z nich prokazatelně vyvolává infekce u člověka. Nejčastějším původcem mykóz je *Aspergillus fumigatus*, ale vzácněji i ostatní druhy např. *A. flavus*, *A. glaucus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. versicolor*.

Příslušníci rodu *Aspergillus* jsou značně rozšířeni v přírodě, jejich spory lze nalézt v půdě, ve vzduchu, na tlejících rostlinách a na zbytcích uhynulých zvířat. Přenos na člověka se děje vzdušnou cestou, inhalací spor.

Infekční onemocnění se nazývá aspergilóza. Primárně jsou postiženy nejčastěji dýchací cesty a choroba má několik forem. Častý je plicní aspergilom, závažné jsou akutní pneumonie a bronchopneumonie nebo u atopiků astma. Další klinické projevy jsou sinusitidy, otitidy a pleurotitidy, postižení očníce a CNS.

Aspergily jsou významnými původci nozokomiálních nákaz. Ohroženi jsou především pacienti se sníženou imunitou a po transplantacích.

4.2.4 Řád *Mucorales*

Plísňě řádu *Mucorales* patří do třídy *Zygomycetes*. Lékařsky nejvýznamnějšími rody se jeví *Rhizomucor*, *Rhizopus* a *Absidia*. Vyskytují se v půdě, v rostlinných i živočišných zbytcích. Kolonizace člověka je náhodná.

Onemocnění se nazývá mukormykóza nebo zygomykóza. Onemocnění se může projevovat jako systémová, vzácněji kožní forma a v tropech forma podkožní. Nejobvyklejšími klinickými formami mukormykózy jsou plicní a rhinocerebrální. Méně časté lokalizace jsou gastrointestinální, bronchiální a kožní. Systémová mukormykóza má velmi rychlý průběh a prakticky stoprocentní smrtnost.

Mucorales jsou vláknité houby a mycelium je neseptované. Sporangiospory (endospory) se tvoří v uzavřeném, kulovitěm sporangiu. V infikované tkáni se nacházejí široké hyfy, které jsou neseptované, nepravidelné až deformované.

Mykormykóza je akutní a často fatální oportunní mykóza, která se obvykle objevuje především u nekontrolovaného diabetu, dále u akutní leukemie, urémie, cirhózy, septického potratu, sepse, těžkých spálenin ...

5 Nozokomiální nákazy

Nozokomiální - nemocniční nákazy (NN) (název je odvozen z řeckého „nozoz“ - nemoc a „komein“ - pečovat) jsou definovány jako infekce, které při příjmu do zdravotnického zařízení pacient neměl ani ve fázi inkubace. Pro přiznání NN je tedy rozhodující čas těsně související s inkubační dobou příslušné specifické infekce. Její vznik po 48 - 72 hodinách od přijetí se obvykle považuje za známku infekce vzniklé spíše ve zdravotnickém, než v jiném (komunitním) prostředí. K nemocniční nákaze může dojít nejen v prostředí nemocnice, ale v každém zdravotnickém zařízení, proto se stále častěji užívá termínu „infekce vzniklé při zdravotnické péči“.

Ke klinické manifestaci NN může dojít ještě v průběhu hospitalizace infikované osoby, mnohdy se však klinické příznaky nemoci projeví až po propuštění pacienta do domácího ošetřování nebo jeho přeložení do jiného zdravotnického zařízení. Za nemocniční nákazu ale nelze pokládat infekci, kterou se postižené osoby nakazily ještě před přijetím do nemocnice, i když nákaza klinicky manifestovala až v průběhu hospitalizace.

NN mohou postihnout kteroukoliv oblast těla. Nejčastější však bývá postižení dýchacích cest, následované katétrymi infekcemi, infekce močového traktu a ran.

5.1 Patofysiologie

Rozvoj NN závisí na dvou faktorech: snížené obranyschopnosti pacienta a na jeho kolonizaci patogenními, nebo potenciálně patogenními mikroby.

Kolonizace mikroby úzce souvisí s pobytem v nemocnici a z mnoha důvodů je velmi častá u kriticky nemocných pacientů, včetně jejich narušené obranyschopnosti, zavádění různých přístrojů a pomůcek, které se stávají ložiskem kolonizace, a častému dlouhotrvajícímu nebo opakovanému podávání antibiotik. Antibiotika mohou vyselektovat z normální mikroflóry těla resistantní, potenciálně patogenní zárodky a navodit tím tzv. endogenní kolonizaci.

Selekce souvisí nejen s počtem podávaných antibiotik, ale i s jejich druhem.

K exogenní kolonizaci dochází přenosem mikrobů cestou přímého styku, kapénkami nebo aerosolem. Přímý styk zahrnuje i přenos rukama personálu

nebo návštěvníků, ale také přenos kontaminovanými nástroji, pomůckami a infuzemi. Vzduchem se přenáší hlavně virové infekce a *Mycobacterium tuberculosis*.

Nejčastějším rezervoárem původců NN je nosohltan, zažívací a močový trakt. Obvyklá je kolonizace těchto lokalit klebsiely, enterobaktery, seráciemi, pseudomonádami a kandidami. Podstatou kolonizace hostitele je schopnost mikroba uchytit se na sliznicích. Při ní se vážou mikrobiální adhesiny s receptory povrchu sliznice. Interakce adhesinů s receptory je charakteristická pro populaci mikrobů, která kolonizuje příslušné sliznice a orgán. Změny adhesinů mohou vést ke vzniku resistance mikrobů na léky, nebo způsob interakce mikrobiálních adhesinů s receptory hostitele může ovlivnit choroboplodnost některých mikrobů obvykle nalézáných při NN.

5.2 Faktory předurčující vznik nozokomiálních nákaz

Predisponující faktory lze rozdělit do čtyř základních skupin:

- snížení odolnosti následkem základního onemocnění
- při akutním průběhu nemoci
- po invazivním zákroku
- po dalších zákrocích

Se vztahem k základnímu onemocnění: vyšší věk, podvýživa, alkoholismus, kouření, chronické onemocnění plic, diabetes mellitus. Tyto faktory usnadňují bakteriální kolonizaci hostitele snížením účinnosti jeho obranných mechanismů. Imunitní stav také ovlivňuje riziko vzniku NN, protože imunokompromitované osoby, včetně majících neutropénii, mají toto riziko největší. Starší pacienti jsou vnímavější než mladší, podvýživa a chronická onemocnění také snižují odolnost pacientů.

Akutní průběh nemoci: operační zákrok, trauma, popáleniny. V těchto případech může vyšší riziko souviset se ztrátou kožní bariéry proti mikrobům a s alterací imunitního stavu. U kriticky nemocných osob může ochablost svalů prodlužovat trvání mechanické ventilace a tak může zvýšit riziko vzniku pneumonie. Také delší hospitalizace při závažném průběhu nemoci zvyšuje pravděpodobnost vzniku NN.

V dalším případě to jsou **faktory, které souvisí s invazivními zákroky**: endotracheální nebo centrální kanyla, mimotělní podpora činnosti ledvin, operační drény, nasogastrická sonda, tracheostomie, cévkování moči.

Faktory související s terapií: transfuze krve, nedávná antimikrobní léčba, imunosupresivní léčba, tj. podávání kortikosteroidů, profylaxe stresové vředové nemoci, dlouhý pobyt na lůžku, parenterální výživa.

5.3 Význam a důsledky nozokomiálních nákaz

Nozokomiální nákazy představují významnou komplikaci nemocniční péče. Mají negativní vliv především na zhoršení prognózy základního onemocnění, zvýšení mortality, prodloužení doby hospitalizace a zvýšení ošetrovacích nákladů. Úmrtnost při NN kolísá od 12 – 80 %, což závisí na ošetřované populaci a použité definici NN. Je obtížné říci, jaká je úmrtnost způsobená samotnou NN. Zpravidla umírají lidé s těžším průběhem základní nemoci, mající větší riziko úmrtí než ostatní pacienti. Zatímco některé práce naznačují vyšší úmrtnost následkem vzniku NN, jiné neprokázaly vyšší mortalitu infikovaných pacientů od neinfikovaných osob v kontrolní skupině (Plesník, 2003).

5.4 Původci nozokomiálních nákaz:

- aerobní gramnegativní bakterie – *Escherichia coli*, *Proteus*, *Enterobacter*
- aerobní grampozitivní koky – *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, infekce zapříčiněné anaerobními baktériemi – *Peptococcus*, *Bacteroides fragilis*
- plísně – nejčastěji kandidózy (infekce vyvolaná kvasinkou žijící v trávicím ústrojí a pochvě)
- viry

5.5 Nozokomiální nákazy v hematoonkologii

Infekce patří k nejčastějším komplikacím u onkologických pacientů a jsou také častou příčinou smrti. K nejobávanějším se řadí především infekce

mykotické, jejichž původci jsou mikroskopické houby, vyskytující se ubikvitárně ve vzduchu, na rostlinách, v půdě, potravinách a na předmětech denní potřeby. Podle světových údajů vzrostl počet nozokomiálních nákaz mykotického původu v uplynulých letech ze 4 na 12 %.

Nejčastější původci mykóz u těchto pacientů představují kvasinky rodu *Candida*: *C. albicans*, non - *albicans Candida*: *C. tropicalis*, *C. krusei* a plísň rodu *Aspergillus*: *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*. Sporadicky se můžeme setkat také s původci z řádu Mucorales a s kryptokoky. Poslední dobou se vzácněji objevují orgánové mykózy způsobené zástupci rodu *Penicillium*, *Cunninghamella* a některými dalšími druhy.

K rizikovým faktorům vzniku infekcí u těchto pacientů patří především oslabení imunitního systému v důsledku základního onemocnění, samotné terapie zhoubných nádorů (chemoterapie, radioterapie), poškození anatomických bariér (sliznice, GIT, používání katétrů), podávání širokospektrých antibiotik, neutropenie a některých dalších faktorů.

Infekce mohou být buď exogenního původu – od ošetřujícího personálu, spolupacientů, ze vzduchu, zvířeného prachu, z trusu ptáků, hlíny z květináčů. Nebo původu endogenního – jako součást přechodné nebo trvalé přirozené mikroflóry, zvláště trávicího traktu, nebo pocházejí z fokálních infekcí, infekcí spojených s umělými náhradami nebo cizími tělesy (venózní, močové katétry, kanyly, chlopně, atd.).

5.6 Nozokomiální nákazy na jednotce intenzivní péče

Nozokomiální nákazy postihují na jednotkách intenzivní péče (JIP) asi 30 % pacientů a jsou významnou příčinou závažné nemoci a úmrtnosti. Byly zjištěny některé rizikové faktory, včetně používání katétrů a dalších invazivních pomůcek, a určité skupiny pacientů (s poraněními, popáleninami), které jsou spojovány s vyšším rizikem vzniku NN. Ošetřování NN je založeno na cílené chemoterapii, která je konzultována se specialistou – infektologem nebo klinickým mikrobiologem, zvláště pak s antibiotickým střediskem a upravována podle výsledků mikrobiologických nálezů.

5.7 Vybrané skupiny nozokomiálních nákaz

5.7.1 Respirační infekce

Dýchací trakt je na JIP nejčastějším místem, v němž se NN rozvine. Podle studie EPIC činil výskyt pneumonií 47 % ze všech NN a tento podíl po začlenění všech respiračních onemocnění stoupl na 65 %. U pacientů s traumaty se infekce dolních cest dýchacích podílela na 28 % ze všech NN.

5.7.2 Močový trakt

Je druhou nejčastější lokalitou NN, ale následky tohoto druhu infekcí bývají obvykle méně závažné, než u jiných NN. Zpravidla provází zavedení močového katétru a bývají nejčastěji vyvolány enterokoky, kvasinkami, *E. coli*, klebsiely a *P. aeruginosa*.

5.7.3 Infekce po zavedení centrálních kanyl

Infekce vznikající následkem zavedení kanyly do krevního oběhu podstatně prodlužují dobu hospitalizace na JIP a zvyšují náklady na ni. Ani nelze dostatečně zdůraznit význam základních hygienických zásad, sterility při zavádění a manipulaci s kanylou.

5.7.4 Ostatní ložiska nozokomiálních nákaz na JIP

Nozokomiální nákazy postihující jiná místa těla jsou na ústupu. Příkladem toho, jak změna ošetrovacího postupu může ovlivnit výskyt NN, jsou nozokomiální sinusitidy, specifické pro pacienty na JIP. Významně častěji vznikají u pacientů, kteří mají sondy zavedené nosem do žaludku nebo do plic.

6 Mykologické vyšetření

6.1 Mikroskopie

Ze vzorků se připravují mikroskopické preparáty, buď nativní nebo barvené. U běžných biologických materiálů se používá barvení dle Grama nebo fluorescenční mikroskopie. U kožních materiálů se dává přednost louhovým preparátům (10 - 20 % KOH nebo NaOH), s možným přídavkem Parkerova inkoustu nebo Blancophoru v případě modifikované fluorescenční mikroskopické metody.

6.2 Kultivace

Za univerzální kultivační médium je v lékařské mykologii považován Sabouraudův agar. Tento agar vyhovuje nárokům většiny významných mikromycet. Pro potlačení růstu nežádoucí bakteriální flóry se přidávají do půdy antibiotika. Obecně je rozšířeno používání chloramfenikolu vzhledem k jeho širokému spektru účinku. V případě, že chloramfenikol nedostačuje, přidává se kombinace amikacinu a vankomycinu do kultivačních půd po jejich sterilizaci.

Složení kultivačních médií, délka inkubace a její teplotní podmínky se liší při průkazu původců systémových mykóz oproti izolaci agens způsobujících mykózy povrchové, především dermatofytů.

6.3 Identifikace

U mikomycet hodnotíme:

- makromorfologii, tj. zevní vzhled kolonií
- mikromorfologii, tj. mikroskopický obraz
- biochemické vlastnosti, tj. sledování fermentačních a asimilačních vlastností kmene

U popisu morfologických a fyziologických vlastností kultury hodnotíme především:

1/ vzhled povrchu kolonií (textura) – u vláknitých hub bývá obvykle sametový, zrnitý nebo vatovitý, u kvasinkovitých mikromycet většinou lesklý charakter růstu – jestli izolovaný kmen mikromycety vykazuje (jde o tvorbu

kvasinkovitých kolonií při teplotě 37°C a vláknitých při 22 - 30°C), nebo jedná-li se o kvasinku či vláknitou houbu (stejný charakter kolonií po inkubaci při všech uvedených teplotách).

2/ rychlost růstu - většina oportunních patogenů a saprofytů roste rychle, vytvářejí kolonie s identifikovatelnými rozmnožovacími orgány už během 3 - 5 dnů. Pomalejší růst je u dimorfních hub a relativně dlouho trvá růst dermatofytů a některých dalších původců povrchových mykóz.

6.3.1 Identifikace kvasinkových mikromycet

Druhové určení izolátů kvasinek je nesnadné především pro nedostatek specifických znaků těchto organismů. Můžeme kultivovat jak kvasinky považované za patogenní (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*), tak vzácnější oportunní druhy jako *Geotrichum candidum*, *Trichosporon capitatum* (Otčenášek, 1990).

Druhová determinace kvasinek by měla být prováděna, pokud je splněn alespoň jeden z následujících případů:

- izolát byl zachycen z krve, mozkomíšního moku nebo z jiných, za normálních okolností sterilních tělních tekutin
- izolát byl kultivován z různých vzorků téhož nemocného nebo ze stejných vzorků téhož nemocného, odebraných následně.

V obou případech je možné, že se nemusí jednat o náhodnou kontaminaci a že tedy izolovaná mikromyceta s vysokou pravděpodobností hraje etiologickou úlohu v infekčním procesu.

Prvním krokem při identifikaci izolovaného kmene kvasinkové houby bývá odlišení nejfrekventovanějšího druhu *C. albicans*, jehož kmeny tvoří více jak 70 % všech nátěrů kvasinek v klinickém materiálu. K určení *C. albicans* používáme test tvorby kličných hyf v séru (germ - tube test). Po 3 h inkubace při 37°C se mikroskopicky hodnotí přítomnost krátkých myceliálních vláken vyrůstajících z jednotlivých blastospor.

Ostatní druhy kandid a zástupci jiných rodů kvasinek je vždy nutno určit pomocí jejich biochemické aktivity. Používají se cukrové a dusíkaté auxanogramy (testování asimilace, tj. využívání těchto látek k růstu jako zdrojů uhlíku) a zymogramy (test štěpení cukrů), produkce ureázy, nebo produkce

extracelulárního škrobu. Např. *C. albicans* štěpí glukózu, maltózu, sacharózu, neštěpí laktózu.

Pokud má narostlá kultura slizovitý charakter, pak je vhodné obarvit preparát čínskou tuší. Tímto způsobem lze odhalit přítomnost polysacharidových pouzder typických pro rod *Cryptococcus*.

V současné době je k dispozici několik identifikačních systémů užívaných k druhovému určení kvasinkovitých mikromycet – API 20 C firmy bioMérieux, Auxacolor firmy Sanofi Diagnostics Pasteur ...).

6.3.2 Identifikace vláknitých mikromycet

Diagnostika vláknitých mikromycet je založena v hodnocení makroskopického vzhledu a mikroskopického obrazu kultury. Identifikace většiny hyfomycet je založena na rozpoznání jejich rozmnožovacích struktur, spor a konidií. Termín konidie zahrnuje různé typy spor uplatňujících se při nepohlavním rozmnožování. Při vlastní identifikaci vláknitých mikromycet se nejprve posuzuje rychlost růstu, morfologie a povrch kolonií a jejich pigmentace.

Mikroskopický preparát připravujeme buď v kapce laktofenolové modři s anilinem nebo v louhovém roztoku s Parkerovým inkoustem.

Tam, kde ani mikroskopie vyšetřované kultury neumožní přesné určení izolovaného kmene, musíme založit mikrokultury. Pokud ani mikrokultury neumožní určit kmen hyfomycety, je nutné použít biochemické testy, využívané zejména při identifikaci dermatofytů. Tyto testy jsou založeny na sledování nutričních nároků, produkci enzymů, schopnosti perforovat lidský vlas *in vitro*, tvorby pigmentů na bramborovém mediu, nebo růstu na rýžovém substrátu.

7 Testování citlivosti k antifungálním látkám *in vitro*

7.1 Difúzní agarová disková metoda

Tato metoda stanovuje citlivost původce podle velikosti zóny růstové inhibice kolem disků obsahující určité koncentrace antimykotik. Výhodou je snadnost a rychlost provedení, nevýhodou ne zcela přesná interpretace výsledků, ovlivňována různým koncentračním spádem antimykotika v agaru, způsobeným variabilní rozpustností, schopností difúze a stabilitou těchto látek.

7.2 Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC)

Umožňuje nejen posouzení citlivosti, ale i určení optimálních léčebných dávek. Výhodou je přesnost a nevýhodou pracnost metodiky.

Ke stanovení MIC se většinou užívá mikrodiluční metoda. Za MIC se považuje nejnižší koncentrace antibiotika, která je ještě schopna potlačit růst.

7.3 Stanovení minimální fungicidní koncentrace (MFC)

Hodnota MFC vyjadřuje nejmenší množství antibiotika, které je schopno vyšetřovaný kmen usmrtit. Jako MFC se hodnotí ve stoupající řadě koncentrací koncentrace mykotika v 1. zkumavce (1. jamce), po jejímž vyočkování nedošlo k nárůstu žádných nebo ne více než tří kolonií.

8 Epidemiologie mykotických infekcí

Epidemiologie se obvykle definuje jako studium povahy, distribuce, příčin, prevence a opatření k zamezení nemocí.

Z epidemiologického hlediska lze nákazy dělit do několika skupin, které jsou charakterizovány způsobem přenosu, nejobvyklejší vstupní branou, ale také druhem nejúčinnějších protiepidemických opatření, především preventivních.

Většinou se rozlišují tyto skupiny nákaz: nákazy alimentární (střevní), vzdušné (respirační), transmisivní (krevní, přenášené členovci), kontaktní (nákazy kůže a zevních sliznic).

Příčiny zvýšeného výskytu mykóz ve 20.století

- zvýšený záchyt (lepší diagnostika)
- přenos díky cestování – endemická mikromyceta
- iatrogenní faktory - antibiotika, kortikoidy, cytostatika, imunosupresiva
- ekologické faktory – prachové částice nebo chemické látky, smog narušující dolní cesty dýchací

8.1 Epidemický proces:

Epidemický proces tvoří tři články: zdroj nákazy, přenos nákazy a vnímavý jedinec.

Zdrojem nákazy je člověk, zvíře nebo prostředí. Šíří-li se nákaza jen mezi lidmi, jde o antroponózu, šíří-li se jen mezi zvířaty, jde o zoonózu. Šíří-li se nákaza mezi zvířaty, ale postihuje i lidi, označujeme ji jako antropozoonózu. Nemocní i nosiči mohou vylučovat infekční agens různým infekčním materiálem, např. stolicí, sekretem dýchacích cest, ale infekční může být i moč, krev, hnis, materiál z kožních projevů onemocnění, mozkomíšni mok...

Přenos nákazy se může uskutečňovat velmi rozmanitým způsobem. Závisí především na lokalizaci infekčního procesu ve zdroji nákazy, na odolnosti infekčního agens vůči zevním vlivům, ale i na vstupní bráně nákazy u vnímavého jedince.

Na vnímavosti a jejím stupni závisí, zda u exponovaného jedince vznikne infekční onemocnění a zda toto onemocnění proběhne manifestně nebo latentně. Vnílavost je protikladem imunity – odolnosti.

8.1.1 Možnosti ovlivnění článků epidemického procesu:

Zdroj nákazy lze ovlivnit především izolací nemocných nebo nosičů a osob nebo zvířat podezřelých z onemocnění, karanténou osob podezřelých z nákazy, účinnou léčbou nemocných a vyhledáváním kontaktů a dalších možných zdrojů nákazy.

Přenos nákazy lze znemožnit nebo alespoň omezit dezinfekcí. Vnílavého jedince lze zbavit vnímavosti aktivní nebo pasivní imunizací.

8.1.2 Hlavní formy protiepidemické práce:

- správná a včasná diagnóza infekčního onemocnění
- hlášení nemocného nebo podezřelého z infekčního onemocnění
- izolace nemocných a z nemoci podezřelých osob v domácím prostředí nebo nemocnici
- vymizení ohniska nákazy a aktivní vyhledávání dalších nemocných
- karanténa osob podezřelých z nákazy, tj. soubor opatření, která mají zabránit tomu, aby osoby v ohnisku nákazy infekci dále šířily
- profylaktické zákroky v ohnisku nákazy
- dezinfekce, dezinsekce a deratizace
- úprava životního režimu, zvláště zvýšení hygieny, zlepšení výživy, omezení nadměrné fyzické a psychické zátěže
- zdravotně výchovná práce jednak v ohnisku nákazy se specifickým zaměřením na vyskytující se nákazu, jednak jako součást školní a mimoškolní výchovy se všeobecným protiepidemickým zaměřením
- kontrola všech protiepidemických opatření

8.2 Epidemiologie mykotických onemocnění člověka

Většinu mykotických infekcí způsobují houby, které se vyskytují jako saprofyty v prostředí. Některé kvasinky jsou komenzály člověka a vyvolávají

endogenní infekce v případě porušení vnitřní rovnováhy, vnímavosti a rezistence. Skutečně nakažlivé jsou jen povrchové mykózy.

8.2.1 Epidemiologie kandidózy

Nejčastěji se vyskytující agens jsou kandidy, jejichž incidence v kulturačním materiálu oportunních mykóz dosahuje v některých souborech přes 90 %. Většinou jde o endogenní infekci. Pro novorozence je zdrojem matka. Výskyt kandidémie postupně vzrůstá a tvoří 8 - 15 % všech hematogenních infekcí. V posledních letech relativně klesá výskyt kandidémie u akutních hemoblastóz, ale dvojnásobně stoupá u lymfomů a solidních nádorů. Jsou zjišťovány i postupné změny orgánové lokalizace a klinické projevy kandidové infekce, a to pokles výskytu kandidóz lokalizovaných pouze v trávicím traktu se současným vzestupem systémového orgánového postižení. Jen ve 2 - 3 % způsobují kandidy renální a oční postižení (endoftalmitidu). Mukokutánní forma kandidózy se objeví dříve nebo později u 40 - 95 % u nemocných s AIDS, často však jako první projev infekce HIV. V tom případě je infekce převážně lokalizována v horní části GIT, zejména orofaryngu, časté je však i postižení průdušek, plic, CNS a kůže. U žen se objevují recidivující vulvovaginitidy. Relativní nárůst kandidových infekcí se z celkového počtu mykóz u maligních onemocnění poněkud zpomalil, na druhé straně dochází k více než dvojnásobnému vzestupu aspergilových a kryptokokových infekcí (Haber, 1995).

8.2.2 Epidemiologie aspergilózy

Zatímco výskyt invazivní kandidózy po zavedení nových triazolových antimykotik postupně klesá (s výjimkou jednotek intenzivní péče), u aspergilózy pozorujeme vzestup incidence i mortality. Vzestup souvisí se zvyšujícím se počtem léčebných výkonů, mezi něž patří intenzivní protinádorová léčba, transplantace kostní dřeně, transplantace solidních orgánů, imunosupresivní léčba autoimunitních chorob a pandemie HIV. Četné epidemiologické studie prokazují vyšší incidenci v souvislosti s mobilizací spor z rezervoárů, k čemuž dochází při stavebních a rekonstrukčních pracích v nemocnici nebo v jejím sousedství. Hromadný nemocniční výskyt byl popsán v souvislosti s infikovaným ventilačním systémem. Vstupní branou infekce jsou dýchací

cesty, kde dochází k inhalaci spor, nejčastější klinická manifestace je v plicích (invazivní plicní aspergilóza) a v ORL oblasti (sinusitida, nitrolební aspergilóza).

Mezi nejvýznamnější rizikové faktory vzniku invazivní aspergilózy, potvrzené multivariační analýzou, patří dlouhodobá granulocytopenie, GVHD (reakce štěpu proti hostiteli, vyžadující imunosupresivní léčbu) a léčba vysokými dávkami kortikoidů. V pozdních obdobích výskytu IA hrají roli i další rizikové faktory.

S vývojem léčebných postupů došlo ke změně (oddálení) časového výskytu IA. Výskyt aspergilózy po transplantaci kostní dřeně se prodloužil, pohybuje se od 25 dní do 100 dní, ale někdy až za 136 dní. V zásadě lze vyzorovat časově bifázický výskyt IA, časný (< 40 dní) a pozdní (41 - 180 dní po přihojení). Podobná situace je i po transplantaci solidních orgánů. Zatímco dříve se objevila aspergilová infekce ještě během pobytu na JIP (během 17 dní), dnes se objevuje za 100 dní (Haber, 2004).

8.2.3 Epidemiologie kryptokokózy

Vzestup kryptokokových infekcí, s predilekční lokalizací v lymfatických uzlinách, plicích a mozku, souvisí především s rozvojem onemocnění AIDS, kde se vyskytuje zhruba u 5 - 13 % nemocných. Z hlediska závažnosti infekce, ohrožující život nemocného s AIDS, zaujímá kryptokokóza čtvrté místo (předchází infekce cytomegalovirem, *Pneumocystis jiroveci* a *Mycobacterium avium-intracellulare*) a je nejnebezpečnější plísňovou infekcí. Kryptokokóza je relativně častější oportunní infekcí u pokročilých nádorových onemocnění, u nichž je komplexní defekt imunity pravidlem, u kolagenóz, sarkoidózy a dalších stavů, vyžadujících systémovou kortikoterapii. Je rizikem u nemocných po transplantaci ledvin, vzácně po transplantaci kostní dřeně nebo jater (Haber, 1995).

8.2.4 Epidemiologie mukormykózy

Mukormykózy jsou příkladem oportunní infekce, která u imunodeficitních nemocných probíhá prakticky vždy fatálně a diagnóza je potvrzena většinou až post mortem. Vyskytují se méně často, postihují zejména nemocné s hemoblastózami, lymfomy, ale i nemocné s chorobami jater, cukrovkou, malnutricí. V poslední době byl pozorován častější výskyt mukormykózy u

dialyzovaných nemocných, jimž byl podáván z důvodů potransfúzní hypersiderémie a hemosiderózy desferoxamin (Haber, 1995).

9 Literatura

Bednář M., Souček A., Vávra J.: Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie, Triton Praha 1994, s. 161 – 176

Buchta V. a kol.: Základy mikrobiologie a parazitologie, Karolinum Praha 1998, s. 143 – 156

Fragner P.: Malá lékařská mykologie, Avicenum Praha 1984, s. 171 - 183

Greenwood D. a kol.: Lékařská mikrobiologie, Grada Publishing Praha 1999, s. 563 - 582, 641 – 656

Haber J.: Invazivní aspergilóza - nové možnosti léčby, Sanquis 2004, http://www.sanquis.cz/autor_clanky.php?id_autor=503

Haber J.: Systémové mykózy a jejich léčba, Galén Praha 1995, str. 15 - 94

Hlisnikovská I.: Výskyt potenciálně patogenních hub ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v letech 1995-1999. Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, 2002

Plesník V.: Nozokomiální infekce na jednotce intenzivní péče, 2003, <http://www.zuova.cz/informace/smd/smd168.pdf>

Šrámková H.: Nozokomiální nákazy, MAXDORF Praha 1995

Špičková E.: Studium spektra humánně patogenních hub izolovaných ve fakultní nemocnici Hradec Králové v roce 1998. Diplomová práce, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, 1999

Tomšíková A.: Nosokomiální mykózy, Karolinum Praha 2003, s. 18 – 21

Tomšíková A.: Mykotická onemocnění u rizikových pacientů, Karolinum Praha 1992, s. 20 – 75

Votava M. a kol.: Lékařská mikrobiologie II., Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii, Masarykova univerzita Brno 2000, s. 265 – 294

Votava M. a kol.: Lékařská mikrobiologie speciální, Neptun Brno 2003, s. 209 - 221

Zahradnický J.: Mikrobiologie a epidemiologie, Avicenum zdravotnické nakladatelství, Praha 1987, s. 277 - 290, 550 - 558, 599 - 605