

KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE A INFEKČNÍ LÉKAŘSTVÍ

Interdisciplinární časopis vydávaný pod záštitou
Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii
a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně

REDAKČNÍ RADA

Šéfredaktor

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
Ústav mikrobiologie FN OL a LF UP v Olomouci

Zástupci šéfredaktora

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.
Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové
Doc. MUDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA
Státní veterinární ústav, Olomouc

Redakční rada

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.
Centrum očkování a cestovní medicíny, Hradec Králové
Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové
Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.
Odd. klinické mikrobiologie Thomayerova nemocnice, Praha
MUDr. Pavel Dlouhý
Infekční oddělení a AIDS centrum,
Krajská zdravotní, a. s., Ústí nad Labem
Doc. MUDr. Olga Džupová, Ph.D.
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.
Ústav mikrobiologie FN OL a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.
Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno
Doc. RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity
Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.
Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej
mikrobiológie, SLS
Doc. MUDr. Lenka Krbková, CSc.
Klinika dětských infekčních nemocí, LF MU a FN Brno
MUDr. Pavla Křížová, CSc.
Státní zdravotní ústav, Praha
MUDr. Roman Kula, CSc.
Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN Ostrava
MUDr. Otakar Nýč, Ph.D.
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
Doc. MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.
Infekční klinika 1. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.
Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava
MUDr. Josef Scharfen, CSc.
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.
Klinika pre infekčné choroby, LF UPJŠ, Košice
Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Infekční klinika 1. LF, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
Ústav farmakologie, FN a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně
MUDr. Eva Žampachová
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice
České Budějovice, a. s.

OBSAH

ÚVODNÍK

J. Bardoň

43

PŮVODNÍ PRÁCE

Přímá identifikace bakterií v hemokulturách pomocí metody MALDI-TOF MS

R. Homolová, K. Bogdanová, J. Bardoň, M. Kolář

45

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

Dalbavancin a jeho využití v léčbě flegmóny horní končatiny vyvolané meticilin rezistentním *Staphylococcus aureus*

O. Zahornacký, M. Novotný

51

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy, výskyt opomíjených mykotických onemocnění

R. Dobiáš, V. Havlíček

54

Terapie chromoblastomykózy a feohyfyomykózy

R. Dobiáš, V. Havlíček

62

Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy – patogenese a laboratorní diagnostika

R. Dobiáš, V. Havlíček

69



YDAVATEL

a adresa redakce:

TRIOS, spol. s r. o.,
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov
Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563
redakce@trios.cz, http://kmil.trios.cz
Redakce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Sazba: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4
Tisk: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.
Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

Časopis je indexován a excerptován v databázích Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica Database a Scopus.

Všechny příspěvky kromě zpráv a dopisů redakci procházejí nezávislou recenzí.

Vychází 4x ročně, roční předplatné 540,- Kč.

Povoleno Ministerstvem kultury ČR pod č. MK ČR 7352.

ISSN 1211-264X

Podávání novinových zásilek povolila Česká pošta, s. p., odštěpný závod Praha, čj. nov. 5449/95 ze dne 7. 12. 1995. Vydavatel nenese odpovědnost za údaje a názory autorů jednotlivých článků nebo inzercí. Současně si vyhrazuje právo na drobné stylistické úpravy článků. Žádná část tohoto časopisu nesmí být bez předchozího písemného souhlasu vlastníka autorských práv kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakémkoliv formě či jakýmkoliv způsobem (ať mechanickým, nebo elektronickým – včetně pořizování fotokopíí, nahrávek či informačních databází).



CONTENTS

CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

Interdisciplinary journal published under the auspices
of the Societies for Clinical Microbiology, for Epidemiology and Microbiology and for Infectious Diseases,
Members of the Czech Medical Association of Jan Evangelista Purkyně

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
Department of Microbiology, Faculty of Medicine
and Dentistry, Palacký University in Olomouc

Editors

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.
Department of Infectious Diseases, Univ. Hospital Hradec
Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA
State Veterinary Institute, Olomouc

Prof. MUDr. Jiří Beněš, CSc.
Dept. Infect. Dis. 3rd Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.
Vaccination Centre and Travel Medicine, Hradec Králové

Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Dept. of Clinical Microbiology, Univ. Hospital Hradec
Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.
Dept. of Clinical Microbiology, Thomayer Univ. Hospital,
Prague

MUDr. Pavel Dlouhý
Department of Infectious Diseases and AIDS Centre,
Masaryk Hospital in Ústí nad Labem

Doc. MUDr. Olga Džupová, Ph.D.
Dept. Infect. Dis. 3rd Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.
Department of Microbiology, Faculty of Medicine
and Dentistry, Palacký University in Olomouc

Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.
Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine,
Masaryk University and University Hospital in Brno

Doc. RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.
Dpt. of Biomedical Sciences, University
of Ostrava's Faculty of Medicine

Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.
Institute for Postgraduate Medical Education, Prague

Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Inst. of Immunol. and Microbiol., 1st Fac. of Med., Charles
Univ. in Prague and General Univ. Hosp. in Prague

Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.
Honorary member of Slovak Society of Clinical Microbiology

Doc. MUDr. Lenka Krbková, CSc.
Clinic of Children's Infectious Diseases,
Masaryk University and University Hospital in Brno

MUDr. Pavla Křížová, CSc.
National Institute of Public Health, Prague

MUDr. Roman Kula, CSc.
Dept. of Anaesthesiology and Resuscit., Univ. Hosp. Ostrava

MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.
Inst. Med. Microbiol. Charles Univ. 2nd Med. Fac. Prague

Doc. MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.
Dept. of Infect. Dis. 1st Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.
Dept. Infectious Diseases, University Hospital Ostrava

MUDr. Josef Scharfen, CSc.
Dept. Med. Microbiol. Immunol. Regional Hospital Trutnov

Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.
Clinic of Infectious Diseases, Medical faculty, Košice

Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Dept. Infect. Dis. 1st Med. Faculty, Charles Univ., Prague

Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
Dept. of Pharmacology, Univ. Hospital Olomouc and Faculty
of Medicine and Dentistry, Palacký Univ. Olomouc

Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Microbiol. Dept., Masaryk Univ. and St. Anna's Hosp. Brno

MUDr. Eva Žampachová
Central Laboratories, The Laboratory of Virology,
Hospital České Budějovice

CONTENTS

EDITORIAL

43

J. Bardoň

ORIGINAL ARTICLE

Direct identification of bacteria in blood cultures by MALDI-TOF MS 45

R. Homolová, K. Bogdanová, J. Bardoň, M. Kolář

SHORT COMMUNICATION

**Dalbavancin and its use in the treatment of methicillin-resistant
Staphylococcus aureus – induced upper limb phlegmon** 51

O. Zahornacký, M. Novotný

REVIEW

**Chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis, overlooked fungal
diseases** 54

R. Dobiáš, V. Havlíček

Treatment of chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis 62

R. Dobiáš, V. Havlíček

**Chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis – pathogenesis
and laboratory diagnosis** 69

R. Dobiáš, V. Havlíček



PUBLISHER

and Editorial Office:

Redakce TRIOS, spol. s r. o.,
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563

redakce@trios.cz, http://kmil.trios.cz

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Advertising: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

DTP: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4

Printed by: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.
Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

This journal is Indexed in Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica
Database and Scopus.

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.

ISSN 1211-264X

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

The views expressed in this journal are not necessarily those of the Editor or Editorial Board.

Úvodník

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

druhé číslo našeho časopisu bývalo zpravidla věnováno problematice infekčních agens, která jsou přenosná ze zvířat na člověka, tedy zoonózám. Letos tomu tak není, ale výpadek zoonóz v časopise nám bohatě vynahradí zoonotický koronavirus v praktickém životě. Přiznám se, že jsem s nápětím očekával, zda-li nám do redakce nedorazí nějaký článek, který by se současné nálezové situaci Covid-19 věnoval a případně z odborného hlediska komentoval mediální zprávy o původu, epidemiologii, klinice, mortalitě a laboratorní diagnostice tohoto viru. Pravda je, že od počátku šíření nákazy v ČR neuplynula příliš dlouhá doba, a tak třeba práce na toto téma dorazí do redakce k publikaci v dalších číslech KMILu. Nejsem virolog ani epidemiolog, takže se necítím dostatečně erudovaný k tomu, abych tuto nákazu podrobněji odborně komentoval. Nicméně musím konstatovat, že události uplynulých měsíců znovu dokázaly, že mikrobiologie a infekční lékařství jsou obory nesmírně důležité a aktuální. Tuto skutečnost si bohužel řada lidí, mnohdy na klíčových postech, stále neuvědomuje. Za mnoho let, kterým se věnuji laboratorní diagnostice, stále řeším různé „koncepce, reorganizace, racionalizace, či úsporná opatření“, která většinou bohužel nejsou ku prospěchu ani oboru, ani organizacím, které v oboru pracují. Nezbyvá tedy doufat, že se s koronavirem vypořádáme a vezmeme si z této situace ponaučení, že šetřit na nesprávném místě se mnohdy v konečném důsledku výrazně prodraží.

Při čtení tohoto čísla KMILu si tedy odpočinete od virů, protože jeho obsah je zaměřen na problematiku bakteriálních a mykotických infekcí. V původní práci z našeho olomouckého pracoviště Vám přiblížíme problematiku přímé identifikace bakteriálních původců infekcí z hemokultur. Další článek je věnován terapii infekce MRSA dalbavancinem. Následuje trojice prací, které pojednávají komplexně o mykotických infekcích – chromoblastomykóze a feohyfo-mykóze.

Dovolte tedy, abych alespoň touto cestou poděkoval autorům článků tohoto čísla a zároveň požádal kolegyně a kolegy, aby psali. Při sestavování jednotlivých čísel časopisu se někdy potýkáme s nedostatkem prací. Víím, že současný trend honby za „impakty“ k publikování v odborných časopisech (bez IF) příliš nemotivuje. Přesto se nemohu zbavit dojmu, že snad základním posláním odborných časopisů je vzdělávání široké veřejnosti pracovníků v daném oboru, což náš KMIL bezezbytku naplňuje.

Přeji Vám krásné letní dny, mnoho zdraví a úspěchů v pracovním i osobním životě.

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph. D., MBA
zástupce šéfredaktora

Přímá identifikace bakterií v hemokulturách pomocí metody MALDI-TOF MS

R. HOMOLOVÁ¹, K. BOGDANOVÁ¹, J. BARDOŇ^{1,2}, M. KOLÁŘ¹

¹Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci a FN Olomouc; ²Státní veterinární ústav, Olomouc

SOUHRN

Homolová R., Bogdanová K., Bardoň J., Kolář M.: **Přímá identifikace bakterií v hemokulturách pomocí metody MALDI-TOF MS**

Úvod: Včasná a kauzální aplikace antibiotik u pacientů s pozitivní hemokulturou patří mezi základní předpoklady úspěšné léčby infekce. Izolace a následná identifikace bakterií z hemokultury klasickými (kultivačními) metodami však může trvat až několik dní. MALDI-TOF MS patří mezi metody, které umožňují rychlou identifikaci bakterií, a to nejen kultur z kultivačních médií, ale i přímo v klinickém materiálu.

Metodika: Do studie byly zařazeny vzorky pozitivních hemokultur, které byly v letech 2016 až 2018 odebrány od pacientů Fakultní nemocnice Olomouc a následně byly vyšetřeny na Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Vzorky pozitivních hemokultur byly zpracovány pomocí vlastního modifikovaného postupu, zahrnujícího odstranění krevních buněk pomocí centrifugace za nižších otáček. Následně byla pomocí centrifugace za vyšších otáček a promývání vzorku získána peleta, která byla testována pomocí MALDI-TOF MS.

Výsledky: Ve studii bylo metodou přímé identifikace vyšetřeno celkem 110 pozitivních hemokultur. Správná identifikace na úrovni druhu byla vyšší u gramnegativních bakterií (88 %) v porovnání s grampozitivními bakteriemi (79 %) a také u nich bylo dosaženo vyšších hodnot identifikačního skóre. Hodnota identifikačního skóre vyšší nebo rovna než 2,0 byla u 62 % hemokultur obsahujících gramnegativní bakterie a 17 % hemokultur obsahujících bakterie grampozitivní. Hodnota identifikačního skóre v rozmezí 1,7–2,0 byla zjištěna u 21 % hemokultur gramnegativních a 33 % hemokultur s grampozitivními bakteriemi.

Závěr: Přímá identifikace mikroorganismů z pozitivních hemokultur metodou MALDI-TOF MS umožňuje rychlejší diagnostiku a v důsledku zkrácení doby potřebné k dosažení výsledku identifikace patogenu může pozitivním způsobem významně ovlivnit antibiologickou léčbu pacientů.

Klíčová slova: infekce, přímá identifikace bakterií, MALDI-TOF MS, hemokultura

SUMMARY

Homolová R., Bogdanová K., Bardoň J., Kolář M.: **Direct identification of bacteria in blood cultures by MALDI-TOF MS**

Background: Early and causal administration of antibiotics in patients with a positive blood culture is an essential prerequisite for successful treatment of infection. However, isolation and subsequent identification of bacteria in a blood culture by classical (culture) methods may last several days. MALDI-TOF MS is a method allowing rapid identification of bacteria, not only cultures from culture media, but also directly in clinical specimens.

Methods: The study included samples of positive blood cultures taken from patients in the University Hospital Olomouc between 2016 and 2018 and examined at the Department of Microbiology of the Faculty of Medicine, Palacký University Olomouc. Positive blood culture samples were processed using an in-house method involving the removal of blood cells by low-speed centrifugation. Subsequently, a pellet obtained by high-speed centrifugation and sample washing was tested by MALDI-TOF MS.

Results: A total of 110 positive blood cultures were examined using the method of direct identification. At a species level, more Gram-negative bacteria (88 %) than Gram-positive bacteria (79 %) were correctly identified, with higher identification score values being obtained for the former. Identification score values of 2.0 or higher were found in 62 % of blood cultures containing Gram-negative bacteria and 17 % of blood cultures containing Gram-positive bacteria. Identification score values ranging from 1.7 to 2.0 were found in 21 % of Gram-negative blood cultures and 33 % of blood cultures containing Gram-positive bacteria.

Conclusion: Direct identification of microorganisms from positive blood cultures using MALDI-TOF MS enables more rapid diagnosis. By reducing the time required to obtain the result of pathogen identification, it may positively affect the antibiotic treatment of patients.

Keywords: infection, direct identification of bacteria, MALDI-TOF MS, blood culture

Klin mikrobiol inf lék 2020;26(2):45–50

Adresa: MVDr. Radka Homolová, Ústav mikrobiologie LF UP v Olomouci, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, e-mail: radka.tarabova@gmail.com

Došlo do redakce: 30. 6. 2020

Schváleno k tisku: 6. 8. 2020

PŮVODNÍ PRÁCE

Úvod

Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (MALDI-TOF MS – Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) je chemotaxonomická metoda, u které je proces identifikace založen na analýze ribosomálních a dalších proteinů v bakteriální buňce. Ribosomální proteiny představují asi 20 % veškerých buněčných bílkovin a asi 3 % celkové hmoty bakterií. Tyto makromolekuly jsou specifické pro jednotlivé bakteriální druhy, a díky tomu mohou být považovány za vhodné biomarkery. Jde o šetrnou ionizační metodu, při které proteiny buněčných extraktů nejsou po zásahu laseru štěpeny, ale pouze ionizovány. Ozáření o vlnové délce 337 nm trvá 4 ns. Matrice zajistí kontakt analyzované molekuly s laserem tak, aby biomolekula nebyla atakována přímo a štěpena nežádoucím způsobem. Matrice také zprostředkovává přenos energie, kdy excitované molekuly matrice za vysokého tlaku ionizují molekuly analytu přenosem protonu. Ionty, které přešly do plynné fáze, postupují přes silné elektrické pole do vakuové trubice hmotnostního analyzátozem, založeném na detekci doby letu částic (TOF – Time of Flight), kde se ionizované částice pohybují rychlostí odpovídající jejich hmotnosti a náboji. Přístroj měří dobu letu částice, lehčí či více nabitě ionty dorazí k detektoru dříve. Detektor je propojen s počítačem a pomocí software (SW) jsou data zpracována. Pro každý kmen je vytvořeno hmotnostní spektrum (profil) jeho proteomu. Profily proteinů jsou pro daný druh mikroorganismu vysoce charakteristické. Vlastní identifikace mikroorganismů následně spočívá ve srovnávání proteinového spektra izolátů se spektry referenčních kmenů v databázi MALDI Biotyper. Míra spolehlivosti identifikace (podobnost izolátů s referenčním kmenem v databázi) se vyjadřuje jako identifikační skóre. Pokud je skóre vyšší než hodnota 2,3 – jedná se o vysoce pravděpodobnou identifikaci na úrovni druhu. Skóre v rozmezí 2,3–2,0 potvrzuje vysoce pravděpodobnou identifikaci na úrovni rodu a pravděpodobnou identifikaci na úrovni druhu. Pravděpodobnou identifikaci na úrovni rodu mají kmeny s hodnotou skóre

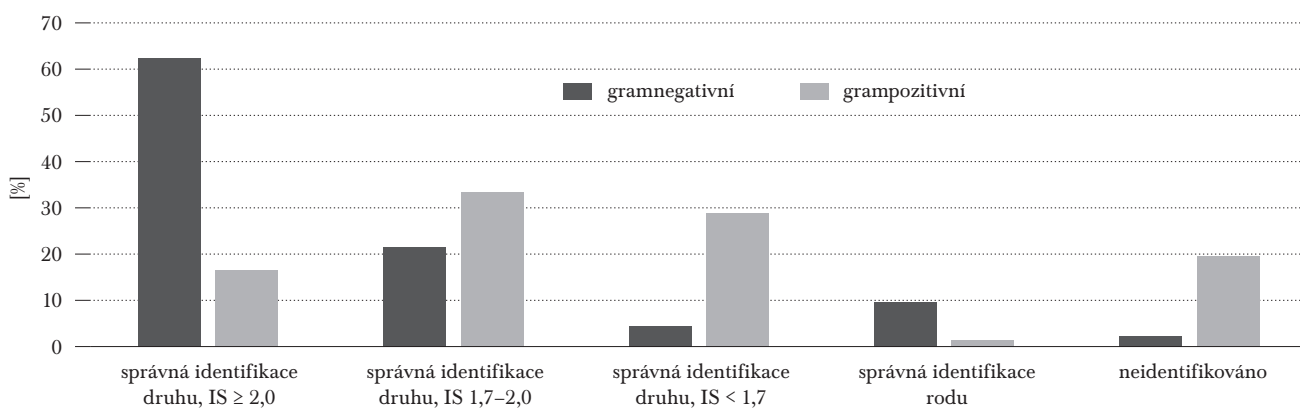
2,0–1,7. Výsledky s hodnotami pod 1,7 signalizují, že kmen nebyl identifikován [1].

Tradiční metody identifikace původce u septických pacientů zahrnují vyšetření pozitivní hemokultury. Hemokultury se odebírají pacientům venepunkcí ještě před podáním antibiotické terapie a odebírají se alespoň 2 sady (aerobní a anaerobní vzorek) [2]. Hemokultury se inkubují v přístroji pro kultivaci a po detekci pozitivních hemokultur se barví dle Grama pro mikroskopické vyšetření. Poté je provedena inokulace pozitivní hemokultury na kultivační půdy, které se inkubují po dobu alespoň 18–24 hodin. Následuje identifikace izolátu pomocí biochemických testů, PCR, případně MALDI-TOF MS a dále testování citlivosti na antibiotika. Hlavní nevýhodou této tradiční metody je prodloužení doby identifikace patogenu o dobu růstu na kultivačních půdách, zejména pokud se jedná o pomalu rostoucí mikroorganismy, jako jsou anaerobní bakterie a houby. Zkrácení doby identifikace patogenu je tedy nesmírně důležité a má významný vliv na mortalitu pacientů [3,4,5]. Jako příklad lze uvést sepsi, patřící mezi život ohrožující stav s vysokou mortalitou [2,3]. U septických pacientů je velmi důležitá rychlá a přesná identifikace bakteriálního původce, která umožňuje provést případnou úpravu antibiotik na základě znalosti primární rezistence identifikované bakterie k antibakteriálním přípravkům [3].

Materiál a metodika

V letech 2016 až 2018 byly na Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci vyšetřovány vzorky pozitivních hemokultur odebraných od pacientů Fakultní nemocnice Olomouc. K testování hemokultur byly použity aerobní lahvičky BD BACTEC™ Plus Aerobic/F Culture Vials (Becton Dickinson and Company, Ireland) a lahvičky anaerobní BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials (Becton Dickinson and Company, Ireland), které byly inkubovány v přístroji pro kultivaci hemokultur BACTEC™ FX BECTON DICKINSON

Graf 1
Porovnání úspěšnosti identifikace gramnegativních a grampozitivních bakterií z hemokultur
přímou metodou MALDI-TOF MS (v %)



(Becton Dickinson and Company, Ireland). BD BACTEC™ FX umožňuje kultivaci a detekci mikroorganismů v hemokultuře za využití fluorescenční technologie. Vzorky pozitivních hemokultur byly zpracovány pomocí níže popsaného vlastního modifikovaného postupu.

Z každé pozitivní hemokultury bylo odebráno 6 ml krve a následně přeneseno do 15 ml plastové sterilní zkumavky a centrifugováno po dobu 5 minut při 1 500 otáčkách za minutu. Poté bylo přeneseno 1 500 µl supernatantu do zkumavky (Eppendorf 1,5 ml) a centrifugováno po dobu jedné minuty při 13 000 otáčkách za minutu. Supernatant byl odstraněn a k peletě bylo přidáno 300 µl vody a 900 µl etanolu. Po pečlivé resuspendaci pelety a centrifugaci po dobu 2 minut při 13 000 otáčkách za minutu byl supernatant odstraněn a k peletě bylo přidáno 5 µl kyseliny mravenčí a 5 µl acetonitrilu. Následovalo další suspendování pelety a centrifugace po dobu 2 minut při 13 000 otáčkách za minutu. Poté se 1 µl supernatantu přenesl na terčík kovové MALDI destičky a nechal se zaschnout. Po převrstvení 1 µl matrice (α -kynano-4-hydroxykyselina) se opět nechal pomalu uschnout. Následně byla destička vložena do hmotnostního spektrometru (Microflex LT, Bruker Daltonics) a byla provedena identifikace.

Výše uvedeným způsobem bylo vyšetřeno 110 hemokultur, které přístroj BACTEC™ FX BECTON DICKINSON označil jako pozitivní. Všechny hemokultury byly současně vyšetřeny pomocí mikroskopie nabarveného preparátu dle Grama a dále pomocí klasických kultivačních metod, kdy je vzorek pozitivní hemokultury inokulován na krevní agar (TRIOS). Po minimálně 24hodinové kultivaci se izolovaná kolonie přenesla na políčko MALDI destičky, nechá se zaschnout a po převrstvení 1 µl matrice a uschnutí je provedena identifikace pomocí MALDI-TOF MS.

Na závěr byly výsledky získané pomocí vlastního modifikovaného postupu a výsledky klasické kultivace s následným využitím MALDI-TOF MS vzájemně porovnány. Za správný výsledek přímé identifikace bakterie obsažené v hemokultuře bylo považováno určení druhu mikroorganismu, které bylo totožné s druhovou identifikací mikroba vykultivovaného konvenční metodou na tekutém či tuhém médiu z identické hemokultury.

Výsledky

Ze 110 hemokultur, které přístroj BD BACTEC™ FX označil jako pozitivní, bylo přímou metodou MALDI-TOF MS identifikováno 66 hemokultur s grampozitivními bakteriemi, 42 hemokultur s gramnegativními bakteriemi a ve dvou hemokulturách byly identifikovány kvasinky. U gramnegativních bakterií bylo přímou metodou správně identifikováno na úrovni druhu 37 hemokultur (88 %), z toho u 26 hemokultur (62 %) byla hodnota identifikačního skóre vyšší nebo rovna 2,0, u 9 hemokultur (21 %) bylo identifikační skóre v rozmezí 1,7–2,0 a u 2 hemokultur (5 %) menší než 1,7. U grampozitivních bakterií bylo přímou metodou správně identifikováno na úrovni druhu 52 hemokultur (79 %), z toho u 11 hemokultur (17 %) byla hodnota identifikačního skóre vyšší nebo rovna 2,0, u 22 hemokultur (33 %) bylo identifikační skóre v rozmezí 1,7–2,0 a u 19 hemokultur

(29 %) menší než 1,7 (graf 1). V obou hemokulturách s přítomností kvasinek (druhy *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*) vyšla nespolehlivá identifikace.

Z hemokultur, u kterých byly kultivací prokázány gramnegativní bakterie, nebyl přímou metodou pomocí MALDI-TOF MS identifikován pouze jeden vzorek hemokultury obsahující *Escherichia coli*. U hemokultur s kultivací prokázanými grampozitivními bakteriemi se nepodařilo přímou metodou identifikovat více vzorků. Konkrétně nebyl pomocí MALDI-TOF MS identifikován 1 vzorek ze 3 hemokultur obsahujících *Enterococcus faecium*, 1 vzorek z 11 hemokultur, které obsahovaly *Staphylococcus aureus* a 1 z 15 se *Staphylococcus epidermidis*. U hemokultur s kultivačně prokázaným výskytem *Staphylococcus hominis* nebyly identifikovány pomocí MALDI-TOF MS 3 vzorky z celkového počtu 10 kultivačně pozitivních hemokultur. V případě *Staphylococcus haemolyticus* se nepodařilo pomocí MALDI-TOF MS identifikovat 3 hemokultury celkem z 11 vzorků kultivačně pozitivních hemokultur. Hemokultury, u kterých byly klasickou kultivační metodou prokázány bakterie *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium mucifaciens*, *Lactobacillus crispatus* a *Streptococcus parasanguinis*, se nepodařilo pomocí MALDI-TOF MS identifikovat vůbec.

U čtyř hemokultur, ve kterých byl kultivačně prokázán *Enterobacter* sp., jsme získali pomocí MALDI-TOF MS ve dvou případech správnou identifikaci pouze na úrovni rodu, konkrétně *Enterobacter asburiae* byl identifikován jako *Enterobacter cloacae*. Podobně *Bacillus cereus* byl přímou metodou mylně identifikován jako *Bacillus subtilis*, dokonce s identifikačním skóre vyšším než 2,0.

U 22 hemokultur (tj. 20 % ze všech hemokultur) bylo dosaženo metodou přímé identifikace bakterií z hemokultur pomocí MALDI-TOF MS vyššího identifikačního skóre, z toho 6 bylo gramnegativních (tj. 5 % ze všech hemokultur) a 16 grampozitivních (tj. 15 % ze všech hemokultur). U gramnegativních bakterií se jednalo o druhy *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* a *Burkholderia multivorans*, u grampozitivních bakterií pak *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Bacillus sonorensis* a *Streptococcus agalactiae*. Bližší údaje udává tabulka 1, která zobrazuje hodnoty identifikačního skóre u gramnegativních a grampozitivních bakterií.

Diskuze

V současné době jsou vzorky pozitivních hemokultur většinou nejprve kultivovány na kultivační média a následně dle výsledné identifikace patogenu a výsledků testů citlivosti na antibiotika může být u pacientů se zahájenou antibiotickou léčbou tato terapie případně upravena. Tím dochází k prodloužení doby do nasazení cílené antibiotické terapie o 48 hodin, u pomalu rostoucích mikroorganismů i déle. V této souvislosti je vhodné zdůraznit, že míra přežití u nevhodně léčených septických pacientů se od nástupu hypotenze snižuje každou hodinu o 7,6 % [6]. Rychlá diagnostika umožní rovněž menší využívání širokospektrálních

PŮVODNÍ PRÁCE

Tabulka 1
Výsledky přímé identifikace hemokultur

Mikroorganismy	Počet testovaných vzorků	Správně identifikovaný druh			Neidenti- fikováno	Chybná identifikace na úrovni druhu, správná na úrovni rodu
		Id. skóre ≥ 2,0	Id. skóre 1,7–2,0	Id. skóre < 1,7		
Gramnegativní bakterie						
<i>Escherichia coli</i>	15	11	3		1	
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1	1			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2	2			
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	5	2	2		
<i>Acinetobacter pittii</i>	1	1				
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	1	1			
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1				
<i>Serratia marcescens</i>	1	1				
<i>Neisseria meningitis</i>	1	1				
<i>Burkholderia multivorans</i>	1	1				
<i>Enterobacter asburiae</i>	2					2
<i>Enterobacter kobei</i>	2	2				
Grampozitivní bakterie						
<i>Enterococcus faecalis</i>	1		1			
<i>Enterococcus faecium</i>	3	1	1		1	
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	2	4	4	1	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1			1		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15	1	5	8	1	
<i>Staphylococcus hominis</i>	10	3	2	2	3	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	11	2	5	1	3	
<i>Corynebacterium aurimucosum</i>	1				1	
<i>Corynebacterium mucifaciens</i>	1				1	
<i>Bacillus sonorensis</i>	1		1			
<i>Bacillus cereus</i>	1					1
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1		1			
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1				1	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	2	1			
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1		1			
<i>Streptococcus mitis</i>	1			1		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1			1		
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1				1	
<i>Propionibacterium acnes</i>	1			1		
Kvasinky						
<i>Candida albicans</i>	1				1	
<i>Candida parapsilosis</i>	1				1	

Id. skóre = identifikační skóre

antibiotik, a může tak mít významný vliv na snížení rezistence bakterií k antibiotikům [7].

MALDI-TOF MS je již v řadě laboratoří rutinně využíváno pro identifikaci mikroorganismů izolovaných na kultivačních půdách. Nově se objevují i metody, které umožňují identifikaci mikroorganismů přímo z tělních tekutin [8]. V případě hemokultur je většina těchto metod založena na přípravě vzorku hemokultury, zahrnující hemolýzu erytrocytů nebo oddělení krevních buněk od séra pomocí centrifugace, případně i užitím zkumavek se separačním gelem [4,5]. Např. Azrad a kol. [3] ve své práci použili zkumavky se separačním gelem (VACUETTE® Z Serum Separator Clot Activator tube, Greiner Bio-One, North Carolina, USA). Výhodou této metody je rychlost a snadno proveditelný postup, zahrnující pouze dva odstředovací kroky, z použitých roztoků stačí fyziologický roztok. Ve srovnání s rutinní metodou touto metodou autoři identifikovali 90 % izolátů (92 % grampozitivních, 95 % gramnegativních, 75 % anaerobních bakterií a 43 % kvasinek).

Na trhu již pro identifikaci bakterií přímo z pozitivních hemokultur existují i komerční soupravy – např. MALDI-Sepsityper Kit (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Použití tohoto komerčního kitu pro přímou identifikaci bakterií z hemokultury je již popsáno v několika studiích [9,10,11,12,13,14]. Nevýhodou těchto komerčních kitů je zejména jejich vyšší cena.

Dalším společně diskutovaným tématem některých prací je posouzení hodnoty identifikačního skóre [9,14,15,16,17]. Spolehlivou identifikaci definuje skóre $\geq 1,7$. Avšak výše uvedené studie popisují jako spolehlivé i nižší identifikační skóre ($< 1,7$). To potvrzují i výsledky identifikace grampozitivních bakterií v naší práci, kdy na úrovni druhu bylo správně identifikováno 29 % hemokultur s grampozitivními bakteriemi s hodnotou identifikačního skóre menší než 1,7. Několik studií navrhlo snížení mezního skóre pro správnou identifikaci. Např. Moussaoui a kol. navrhli snížení hodnoty identifikačního skóre na 1,4; když čtyři po sobě jdoucí návrhy identifikace, které poskytuje expertní komentáře přístroje, uvádějí různé druhy patřící do stejného rodu [3,18].

Při identifikaci kvasinek se pomocí našeho modifikovaného postupu nepodařilo identifikovat ani jednu hemokulturu s *Candida* sp. Azrad a kol. [3] popsali ve své práci obtížnou identifikaci kvasinek, proto doporučili přípravu izolátu, která naruší stěny buněk a uvolní intracelulární proteiny. Dále ve své práci zmínili, že u pomalu rostoucích mikroorganismů je v hemokultuře nižší koncentrace mikroorganismů, což taktéž vede k obtížné identifikaci. Udává se, že v čase pozitivní hemokultury je koncentrace bakterií v hemokultuře v rozmezí 2×10^7 – 72×10^9 CFU/ml [19]. Vliv na hodnotu identifikačního skóre má také doba od času positivity hemokultury do doby, kdy je pozitivní hemokultura podrobena vyšetření. Pro získání dostatečného profilu při identifikaci pomocí MALDI-TOF MS je vyžadována koncentrace mikroorganismů $> 10^6$ CFU/ml. Čím vyšší je koncentrace bakterií v hemokultuře, tím lépe rozeznatelná jsou spektra, a tím vyšší je identifikační skóre [19,20]. Christner a kol. popsali, že při koncentraci bakterií v hemokultuře $> 10^8$ byla hmotnostní spektra velmi podobná spektrům získaným z čistých agarových kultur testovaných mikroorganismů [19,20].

Limitujícím faktorem přímé identifikace bakterií pomocí MALDI-TOF MS z hemokultur je skutečnost, že hmotnostní spektrometrie obecně je méně přesná u polymikrobiálních kultur [3].

Závěr

Přímá identifikace mikroorganismů z pozitivních hemokultur metodou MALDI-TOF MS umožňuje rychlejší diagnostiku. Zkrácení doby potřebné k dosažení výsledku identifikace může pozitivním způsobem ovlivnit antibiotickou léčbu. Výhodou této metody je zejména její rychlost a v porovnání s ostatními metodami přímé identifikace také časová nenáročnost a nízké provozní náklady (zejména v porovnání s přímou identifikací pomocí komerčního Sepsityper kitu).

Podpořeno projektem IGA_LF_2020_021.

Literatura

- Bursova Š, Dušková M, Necidová L, Karpíšková R, Myšková P. Mikrobiologické laboratorní metody. 1. vyd. Brno: Ústav hygieny a technologie mléka. Fakulta veterinární hygieny a ekologie. Veterinární a farmaceutická univerzita; 2014.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med.* 2012;39(2):165–228.
- Azrad M, Keness Y, Nitzan O, et al. Cheap and rapid in-house method for direct identification of positive blood cultures by MALDI-TOF MS technology. *BMC Infect Dis.* 2019;19:72.
- Bazzi AM, Rabaan AA, El Edaily Z, et al. Comparison among four proposed direct blood culture microbial identification methods using MALDI-TOF MS. *J Infect Public Health.* 2017;10:308–315.
- Yonetani S, Ohnishi H, Ohkusu K, Matsumoto T, Watanabe T. Direct identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI TOF MS using an in-house saponin method. *Int J Infect Dis.* 2016;52:37–42.
- Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006;34:1589–1596.
- Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, et al. Implementing an antibiotic stewardship program: guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis.* 2016;62:51–77.
- Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol.* 2015;6:791.
- Morgenthaler NG, Kostrzewa M. Rapid identification of pathogens in positive blood culture of patients with sepsis: review and meta-analysis of the performance of the Sepsityper kit. *Int J Microbiol.* 2015; 2015:1–10.
- Kok J, Thomas LC, Olma T, Chen SC, Iredell JR. Identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption/ionization Sepsityper™ and time of flight mass spectrometry. *PLoS One.* 2011;6(8):e23285.
- Schieffer KM, Tan KE, Stamper PD, et al. Multicenter evaluation of the Sepsityper™ extraction kit and MALDI-TOF MS for direct identification of positive blood culture isolates using the BD BACTEC™ FX and VersaTREK® diagnostic blood culture systems. *J Appl Microbiol.* 2014;116(4):934–941.
- Meex C, Neuville F, Descy J, et al. Direct identification of bacteria from BacT/ALERT anaerobic positive blood cultures by MALDI-TOF MS: MALDI Sepsityper kit versus an in-house saponin method for bacterial extraction. *J Med Microbiol.* 2012;61(11):1511–1516.

PŮVODNÍ PRÁCE

13. Tadros M, Petrich A. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry and Sepsityper Kit™ for the direct identification of organisms from sterile body fluids in a Canadian pediatric hospital. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2013;24(4):191–194.
14. Martiny D, Dediste A, Vandenberg O. Comparison of an in-house method and the commercial Sepsityper™ kit for bacterial identification directly from positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption-ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31(9):2269–2281.
15. Saffert RT, Cunningham SA, Mandrekar J, Patel R. Comparison of three preparatory methods for detection of bacteremia by MALDI-TOF mass spectrometry. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73(1):21–26.
16. Schubert S, Weinert K, Wagner C et al. Novel, Improved Sample Preparation for Rapid, Direct Identification from Positive Blood Cultures Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry. *J Mol Diagn.* 2011;13(6):701–706.
17. Idelevich EA, Grunewald CM, Wüllenweber J, Becker K. Rapid identification and susceptibility testing of *Candida* spp. from positive blood cultures by combination of direct MALDI-TOF mass spectrometry and direct inoculation of Vitek 2. *PLoS One.* 2014;9(12):e114834.
18. Moussaoui W, Jaulhac B, Hoffmann AM, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry identifies 90 % of bacteria directly from blood culture vials. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(11):1631–1638.
19. Christner M, Rohde H, Wolters M, et al. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1584–1591.
20. Tarabová R, Bardoň J. Využití metody MALDI-TOF MS k přímé identifikaci bakterií z klinického materiálu. *Klin Mikrobiol Infekč Lék.* 2016;22(4):161–165.

Dalbavancín a jeho využitie v liečbe flegmóny hornej končatiny vyvolanej meticilín rezistentným *Staphylococcus aureus*

O. ZAHORNACKÝ, M. NOVOTNÝ

Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a UNLP, Košice

SÚHRN

Zahornacký O., Novotný M.: **Dalbavancín a jeho využitie v liečbe flegmóny hornej končatiny vyvolanej meticilín rezistentným *Staphylococcus aureus***

Článok pojednáva o pomerne novom lipoglykopeptidovom antibiotiku na trhu s názvom dalbavancín. Stručne popisuje spektrum a mechanizmus jeho antibakteriálneho účinku a dávkovacie schémy, ktoré je možné použiť v liečbe infekcií kože a mäkkých tkanív. V predloženej kazuistike autori popisujú prípad flegmóny ramena u pacientky, ktorej vyvolávateľom bol MRSA a na jej liečbu bolo úspešne použité toto antibiotikum.

Kľúčové slová: dalbavancín, MRSA, nozokomiálna infekcia

SUMMARY

Zahornacký O., Novotný M.: **Dalbavancin and its use in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – induced upper limb phlegmon**

The article discusses dalbavancin, a relatively new lipoglycopeptide antibiotic brought to market. It briefly describes the spectrum and mechanism of its antibacterial effect and dosing regimens that can be used in the treatment of skin and soft tissue infections. The authors present a case of a patient with shoulder phlegmon caused by MRSA who was successfully treated with this antibiotic.

Keywords: dalbavancin, MRSA, nosocomial infection

Klin mikrobiol inf lék 2020;26(2):51–53

Adresa: MUDr. Ondrej Zahornacký, Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a UNLP v Košiciach, Rastislavova 43, 040 01 Košice, Slovenská republika, e-mail: ondrejzahornacky@gmail.com

Došlo do redakcie: 28. 5. 2020

Prijato k tisku: 8. 7. 2020

Úvod

Neustále rastúca incidencia závažných infekcií kože a mäkkých tkanív, ktoré sú vyvolané rezistentnými grampozitívnymi baktériami, si v praxi vyžiadala používanie nových antibiotických preparátov. Faktom je, že miera antibiotickej rezistencie grampozitívnych baktérií z rodu *Staphylococcus*, *Streptococcus* a *Enterococcus* neustále rastie a predstavuje celosvetový problém, nie len v nemocničnom prostredí. Svetové dáta úvádzajú, že až 50 % nozokomiálnych infekcií na jednotkách intenzívnej starostlivosti v USA a Veľkej Británii je vyvolaných *Staphylococcus aureus*, ktorý je rezistentný na meticilín (MRSA) [1]. Všeobecne však platí, že rezistencia zlatého stafylokoka už dávno nie je obmedzená na prostredie nemocníc a komunitné kmene MRSA (CA-MRSA) sú už bežnou príčinou komunitných infekcií kože a mäkkých tkanív. Podľa závažnosti sa môže jednať

o jednoduché kožné infekcie, ďalej abscesy, flegmóny a celulitídy, ktoré môžu vyústiť do osteomyelitídy a sepsy. Tradične používaným antibiotikom, ktoré sa v súčasnej klinickej praxi najviac používa na liečbu infekcií kože a mäkkých tkanív vyvolaných MRSA, je vankomycín. Vhodnou, pomerne novou alternatívou na trhu je lipoglykopeptidový preparát dalbavancín. Ide o baktericídne antibiotikum, ktoré sa používa predovšetkým na liečbu komplikovaných infekcií kože a mäkkých tkanív vyvolaných MRSA [2].

Mechanizmus a spektrum účinku dalbavancínu

Dalbavancín je semisyntetické, lipoglykopeptidové, baktericídne, dlhodobopôsobiace, intravenózne podávané antibiotikum. Jeho použitie na liečbu infekcií kože a mäkkých

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

tkanív u dospelých bolo schválené v USA v roku 2014, v Európskej únii na začiatku roku 2015 [3,4].

V súčasnej praxi dalbavancín predstavuje vhodnú alternatívu doteraz používaných glykopeptidových antibiotík – vankomycínu a teikoplanínu. Jeho chemická štruktúra je odvodená od teikoplanínu, s pridaním postranného lipofilného reťazca. Podstatou mechanizmu účinku je interakcia s terminálnym D-alanyl-D-alanínovým zvyškom v molekule peptidoglykánových prekursorov. Väzba na toto miesto bráni enzýmom transglykozyláze a transpeptidáze katalyzovať tvorbu peptidoglykánovej siete, čo následne vedie k porušeniu integrity bunkovej steny gram-pozitívnych baktérií a k ich smrti [5,6].

Okrem toho má dalbavancín jedinečnú schopnosť dimerizovať a ukotviť svoj lipofilný bočný reťazec v bakteriálnych membránach. Predpokladá sa, že to zvyšuje jeho antimikrobiálnu účinnosť. V dôsledku toho má dalbavancín in vitro silnejšiu baktericídnu aktivitu ako vankomycín, alebo teikoplanín proti mnohým rezistentným gram-pozitívnym organizmom [7].

V súčasnosti je dalbavancín indikovaný na liečbu komplikovaných (aj nozokomiálnych) infekcií kože a mäkkých tkanív vyvolaných *Staphylococcus aureus* (vrátane *MRSA*), ďalej *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus anginosus*. In vitro má účinok aj voči vankomycín rezistentným enterokokom (kmene s fenotypovým typom rezistencie VanB). Taktiež vykazuje aktivitu voči anaeróbnym gram-pozitívnym baktériam, vrátane *Clostridium difficile* a *Clostridium perfringens*, *Peptoniphilus* spp. a rodu *Peptostreptococcus*. V súčasnosti sa však na liečbu klostrídiovej enterokolitídy nepoužíva [8].

Dávkovanie dalbavancínu pri liečbe infekcií kože a mäkkých tkanív

Poznáme dve základné schválené dávkovacie schémy pre dalbavancín na liečbu infekcií kože a mäkkých tkanív. Vzhľadom na skutočnosť, že má toto antibiotikum mimoriadne dlhý polčas rozpadu (v porovnaní s inými antibiotikami), je možné využívať výhodnú, jedno resp. dvojdávkovú schému podávania [9].

Podľa schválenej dvojdávkovej schémy sa odporúča podávanie 1 000 mg antibiotika intravenózne (i. v.) v 1. deň liečby. Následne ďalších 500 mg i. v. sa podáva na 8. deň.

Podľa neskôr schváleného jednodávkového režimu sa odporúča v 1. deň liečby podať 1 500 mg antibiotika. Táto schéma nevyžaduje podanie ďalšej dávky [10].

Pre dobrú penetráciu dalbavancínu do kostného tkaniva je možné toto antibiotikum využiť nie len na liečbu infekcií kože a mäkkých tkanív, ale aj na liečbu osteomyelitídy. Odporúčaným dávkovaním je 1 500 mg i. v. v 1. deň liečby a následne 1 500 mg i. v. na 8. deň. Alternatívou je podávanie 1 500 mg i. v. v 1. deň a následne 500 mg i. v. jedenkrát týždenne, celkovo štyrikrát [11].

Pre jeho výborný účinok na gram-pozitívne baktérie je možné dalbavancín použiť aj v liečbe endokarditídy (dĺžka liečby zvyčajne trvá 6 týždňov) [12].

U pacientov s renálnou insuficienciou je odporúčané dávku antibiotika redukovať. Pri poklese clearances kreatinínu pod 30 ml/min. sa úvodná dávka redukuje na 750 mg i. v.

a 375 mg i. v. na 8. deň liečby. Pri použití jednodávkového režimu sa dávka redukuje na 1 250 mg i. v. Dávkovanie u dializovaných pacientov nevyžaduje úpravu [13].

Kazuistika

56ročná pacientka s anamnézou polymyozitídy, artériovej hypertenzie, s diabetom 2. typu na orálnych antidiabetikách, po opakovaných recidívach herpes zoster bola prijatá na jednotku intenzívnej starostlivosti Kliniky infektológie a cestovnej medicíny pre teploty, poruchu vedomia typu somnolencie a dyzartriu. V predchorobí pacientka a príbuzní udávali asi 3 dni trvajúce teploty do 40 °C a bolesti v oblasti pravého ramena, kde prítomný herpes zoster v štádiu zaschnutých krúst. V období posledného roka pacientka nebola hospitalizovaná v žiadnom zdravotníckom zariadení. V objektívnom náleze bola koža v postihnutej oblasti palpácie citlivá, teplejšia oproti okoliu, erytém prítomný nebol. Pacientka bola somnolentná a dyzartrická. Počas vstupného vyšetrenia afebrilná a kardiopulmonálne kompenzovaná, jej váha bola 75 kg.

Vo vstupnom laboratórnom vyšetrení dominovala septická elevácia zápalových markerov (leukocytóza 21x/l, neutrofilia 90%, CRP 509 mg/l, PCT 22 µg/l, laktát 3,64 mmol/l). Hodnoty hepatálnych parametrov boli v norme, elevované sú aj renálne parametre (urea 14 mmol/l, kreatinín 133 µmol/l). Odoberatý bol materiál na mikrobiologické vyšetrenie (moč, hemokultúra, výter z nosa, hrdla, z kože ramena, serologické vyšetrenia). Okamžite, vzhľadom na septický stav začatá komplexná symptomatická a rehydratačná liečba, empiricky podávaná dvojkombinácia antibiotík cefotaxím 2 g každých 8 hodín i. v., gentamicín 320 mg každých 24 hodín i. v. V kontrolných laboratórnych odberoch dochádza k poklesu zápalových markerov (leukocytóza 15x CRP 474 mg/l, PCT 12,2 µg/l), normalizuje sa hladina laktátu a renálnych parametrov.

V rámci diferenciálnej diagnostiky poruchy vedomia doplnené neurologické vyšetrenie a CT vyšetrenie mozgu, ktoré neobjasňuje príčinu somnolencie. RTG vyšetrenie hrudníka je bez patologického nálezu, ultrasonografické vyšetrenie brucha odhaľuje hepatosplenomegáliu.

Pre zhoršenie lokálneho nálezu na ramene hornej končatiny a podozrenie na osteomyelitídu zmenená antibiotická liečba na metronidazol 500 mg à 8 hodín i. v., klindamycín 600 mg à 8 hodín i. v., pokračuje liečba gentamicínom, liečba cefotaxímom ukončená. Následne doplnené zobrazovacie vyšetrenie ramena pomocou magnetickej rezonancie s nálezom difúzneho edému mäkkých štruktúr ramena, prítomná je aj axilárna lymfadenopatia, bez nálezu abscesových formácií, bez nálezu osteomyelitídy. Na odporúčanie neurológa doplnená aj magnetická rezonancia mozgu, kde nález viacerých čerstvých ischemických zmien, najmä vo frontoparietálnej oblasti, najväčšia meria 38 × 13 mm. Vzhľadom na klinický stav a anamnézu sa dľa popisu rádiológa môže jednať o septické embolizácie. Laboratórne dochádza k miernemu poklesu CRP (412 mg/l) a PCT (2,7 µg/l), avšak opätovne sa zvyšuje počet leukocytov (29,8/l), stúpa telesná teplota (38,6 °C). Z mikrobiologického laboratória hlásený nález *MRSA* vo výtere z kože ramena, preto opätovne zmena antibiotickej liečby na vankomy-

cín 1 g à 12 hodín i. v. (pri hmotnosti pacientky 75 kg), pokračujeme v liečbe gentamicínom, liečba klindamycínom a metronidazolom ukončená. Pre podozrenie na infekčnú endokarditídu doplnené transtorakálne aj transezofageálne echokardiografické vyšetrenie, ktoré je bez nálezu vegetácií na endokarde chlopní. Pri uvedenej liečbe sa laboratórne parametre pacientky zlepšujú (leukocytóza 14/l, CRP 228 mg/l, PCT 0,9 µg/l), avšak dochádza k progresii lokálneho nálezu na ramene v zmysle zväčšovania rozsahu infiltrácie mäkkých tkanív, opäť sa objavuje horúčka (38,8 °C). Vzhľadom na teploty a lokálny nález, pre nebezpečenstvo z premeškania zmena antibiotickej liečby berúc do úvahy nález *MRSA* vo výtere z rany na dalbavancín. Zvolená bola jednodávková dávkovacia schéma – 1 500 mg i. v. jednorázovo, liečba ostatnými antibiotikami bola ukončená. Pri uvedenej liečbe sa stav pacientky zlepšuje, klesajú zápalové parametre (leukocyty 10,13/l, CRP 10,63 mg/l, PCT 0,071 µg/l, laktát v norme). Pacientka je po 14 dňovej hospitalizácii na jednotke intenzívnej starostlivosti v celkovom dobrom stave prepustená do ambulatnej starostlivosti bez nutnosti ďalšej antibiotickej liečby.

Záver

Súčasná epidemiologická situácia a fakt, že rezistencia baktérií dosiahla enormné rozmery a stáva sa problémom nie len v nemocničných zariadeniach, nás v praxi núti používať stále novšie antibiotiká. Relatívne novým preparátom, ktorý je na európskom trhu dostupný od roku 2015, je lipoglykopeptidové antibiotikum dalbavancín. Jeho použitie je v súčasnosti rezervované na liečbu komplikovaných infekcií kože a mäkkých tkanív u dospelých. Spektrum jeho účinku zahŕňa väčšinu obávaných, aj nozokomiálnych grampozitívnych baktérií, napr. *MRSA*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*. Jeho mimoriadne dlhý polčas rozpadu umožňuje v praxi použiť časovo výhodne dávkovacie režimy. V článku je popísaný prípad polymorbídnej pacientky s komplikovanou flegmónou ramena vyvolanej *MRSA* (vzhľadom na negatívnu epidemiologickú anamnézu zrejme *CA-MRSA*), ktorá bola v úvode ochorenia empiricky liečená kombináciou viacerých antibiotík, bez klinického efektu. Na liečbu flegmóny bolo nakoniec úspešne použité antibiotikum dalbavancín. Zvolená bola jednodávková schéma podania s výbornou klinickou aj laboratórnou odpoveďou. Vzhľadom na predchádzajúci výskyt herpes zoster v postihnutej oblasti kože ramena nie je možné s určitosťou vylúčiť, že išlo o sekundárnu bakte-

riálnu infekciu kože. Aj napriek faktu, že vyvolávateľom flegmóny končatiny bol *MRSA*, nemal vankomycín klinický efekt. Dôvodom klinického zlyhania vankomycínu by teoreticky mohol byť jeho horší prienik do mäkkých tkanív (v porovnaní napr. s linezolidom), prípadne rozdiel v citlivosti stafylokoka *in vitro* a *in vivo*. Záverom je potrebné poznamenať, že sa dalbavancín zdá byť sľubnou možnosťou liečby závažných infekcií kože a mäkkých tkanív. Toto dlhodobopôsobiace, bezpečné a dobre znášané antibiotikum poskytuje v praxi možnosť efektívnejšie liečiť závažné infekcie kože a mäkkých tkanív, na čo poukazuje aj kazuistika v článku.

Literatúra

- Garnock-Jones KP. Single-dose dalbavancin: a review in acute bacterial skin and skin structure infections. *Drugs*. 2017;77:75–83.
- Steele JM, Seabury RW, Hale CM, et al. Unsuccessful treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections with dalbavancin. *J Clin Pharm Ther*. 2018;43(1):101–103.
- Almangour TA, Perry GK, Terriff CM, et al. Dalbavancin for the management of gram positive osteomyelitis: effectiveness and potential utility. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019;93:213–218.
- Garnock-Jones KP. Single-dose dalbavancin: a review in acute bacterial skin and skin structure infections. *Drugs*. 2017;77(1):75–83.
- Esposito S, Bassetti M, Concia E, et al. Diagnosis and management of skin and soft-tissue infections (SSTI). A literature review and consensus statement: an update. *J Chemother*. 2017;29(4):197–214.
- Falcone M, Concia E, Giusti M, et al. Acute bacterial skin and skin structure infections in internal medicine wards: old and new drugs. *Intern Emerg Med*. 2016;11(5):637–648.
- Chen AY, Zervos MJ, Vazquez JA. Dalbavancin: a novel antimicrobial. *In Int J Clin Pract* 2007;61(5):853–863.
- Bassetti M, Peghin M, Carnelutti A, et al. The role of dalbavancin in skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2018;31:141–147.
- Campanile F, Falcone M. Scientific evidences on microbiological efficacy, pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) and clinical profile of dalbavancin. *Infezioni in Medicina*. 2018; Suppl 2:3–17.
- Carrothers TJ, Chittenden JT, Critchley I. Dalbavancin population pharmacokinetic modeling and target attainment analysis. *Clin Pharmacol Drug Dev*. 2020;9(1):21–31.
- Dunne MW, Puttagunta S, Giordano P, et al. A randomized clinical trial of single-dose versus weekly dalbavancin for treatment of acute bacterial skin and skin structure infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;62(5):545–551.
- Tobudic S, Forstner C, Burgmann H, et al. Dalbavancin as primary and sequential treatment for Gram-positive infective endocarditis: 2-Year Experience at the General Hospital of Vienna. *Clinical Infectious Diseases*. 2018; cij279.
- Lepak A, Marchillo K, VanHecker J, et al. Impact of glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus* on the dalbavancin in vivo pharmacodynamic target. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:7833–7836.

Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy, výskyt opomíjených mykotických onemocnění

R. DOBIÁŠ¹, V. HAVLÍČEK²

¹Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, oddělení bakteriologie a mykologie;

²Laboratoř charakterizace molekulárních struktur, Mikrobiologický ústav, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

SOUHRN

Dobiáš R., Havlíček V.: **Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy, výskyt opomíjených mykotických onemocnění**

Tmavě pigmentované mikromycety jsou rozšířené po celém světě, uplatňují se jako půdní saprofyty a bývají často nacházeny na rostlinných zbytcích. A právě v případě chromoblastomykóz se dostávají infekční částice těchto hub do lidského těla v místě poranění a mohou způsobit chronickou infekci, a to hlavně v tropických a subtropických endemických oblastech. Chromoblastomykóza je téměř výhradně diagnostikována v případě pacientů s plně funkční imunitou a typické muriformní buňky přítomné v infikované tkáni toto onemocnění odlišují od feohyfyomykózy. Feohyfyomykóza, méně specifické onemocnění způsobené tmavě pigmentovanými houbami, obvykle spíše tkáň nekrotizuje než proliferuje, zahrnuje mnohem širší spektrum původců říše hub a je spojována většinou s imunitními poruchami. Chromoblastomykóza představuje riziko většinou pro dospělou mužskou populaci a je po celém světě považována za nemoc z povolání, ovlivňující zemědělce, zahradníky, dřevorubce, prodejce zemědělských produktů a další pracovníky vystavené kontaminované půdě a práci s materiály rostlinného původu. Pro imunokompetentní pacienty v České republice představuje onemocnění chromoblastomykózou spíše riziko importované nákazy, i když v minulosti byla tato infekce velmi vzácně dokumentována také autochtonně i na území České republiky.

Klíčová slova: chromoblastomykóza, feohyfyomykóza, tmavě pigmentované houby, incidence, Česká republika

SUMMARY

Dobiáš R., Havlíček V.: **Chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis, overlooked fungal diseases**

Dark-pigmented microscopic fungi are worldwide-spread soil saprophytes often found on plant remnants. In chromoblastomycosis, infectious particles of these fungi enter the human body at the site of injury and may cause chronic infection, mainly in tropical and subtropical endemic areas. Chromoblastomycosis is almost exclusively diagnosed in patients with fully functioning immunity, with typically muriform cells present in infected tissue distinguishing this condition from phaeohyphomycosis. Phaeohyphomycosis, a less specific disease caused by dark-pigmented fungi, usually makes tissue necrotize rather than proliferate, involves a broader range of pathogens of the kingdom Fungi and is mainly associated with immune disorders. Chromoblastomycosis is usually a threat to male adults, globally considered an occupational disease affecting farmers, gardeners, loggers, agricultural commodity traders and other workers exposed to contaminated soil or handling materials of plant origin. In the Czech Republic, immunocompetent patients may be at risk of chromoblastomycosis as imported infection. In the past, however, the infection was also rarely documented as autochthonous in the country.

Keywords: chromoblastomycosis, phaeohyphomycosis, dark-pigmented fungi, incidence, Czech Republic

Klin mikrobiol inf lék 2020;26(2):54–61

Adresa: Mgr. Radim Dobiáš, Ph. D., Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava; e-mail: radim.dobias@zuova.cz

Došlo do redakce: 25. 3. 2020

Přijato k tisku: 16. 7. 2020

Úvod

Leckdy opomíjená onemocnění pocházející z tropických oblastí zahrnují různorodou řadu endemických tropických a subtropických chorob, které převládají v těchto oblastech po celém světě. Obvykle postihují osoby žijící v rozvo-

vých zemích, které se nacházejí v Asii, Africe a Latinské Americe. Tyto infekce obvykle postihují populaci, která není cestovatelsky aktivní a odborná i laická veřejnost o těchto chorobách není dostatečně informována. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je výskyt těchto onemoc-

nění spojen s chudobou a znevýhodněnými podmínkami k životu. Na tato opomíjená onemocnění nejvíce trpí hlavně nejchudší populace, často žijící ve vzdálených venkovských oblastech, městských slumech a konfliktních světových zónách. Díky velmi malému zájmu unikala pozornosti zdravotní péče a nebyla v hledáčku systémů veřejného zdraví a součástí jejich priorit [1]. Několik endemických chorob, včetně helmintóz, protozoálních, bakteriálních a virových infekcí, definuje WHO jako „opomíjená onemocnění“, mezi která ale vůbec do nedávna nebyla řazena mykotická onemocnění jiná než systémová mykotická infekce. Ačkoli u některých infekcí bylo dosaženo pokroku, mnoho z těchto nemocí není monitorováno v systému veřejného zdravotnictví dodnes, na rozdíl od jiných vysoce významných globálních nemocí. Kvůli neobjasněným podmínkám dormance těchto infekčních agens v lidském těle není riziko postupného překonání imunitního systému člověka právě po pobytu v takovýchto oblastech světa zanedbatelné a infekce tohoto typu lze nazývat hlubokými mykózami a v roce 2016 byl mycetom zařazen jako jediné mykotické onemocnění na seznam často opomíjených tropických onemocnění WHO a v roce 2017 byla také přidána chromoblastomykóza (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/mycetoma>) [2–5].

Hluboké mykózy jsou také klasifikovány jako „subkutánní mykózy“ a tento termín se vztahuje na různorodou skupinu heterogenních mykotických onemocnění, u nichž způsob infekce zahrnuje několik typů transkutánního traumatu. Seznam hlubokých mykóz zahrnuje globální infekce, jako je feohyfyomykóza a entomofyomykóza, jakož i endemické mykózy, jako je sporotrichóza, eumycetom, lakazióza (lobomykóza) a chromoblastomykóza [6,7]. Chromoblastomykóza je jednou z nejčastějších hlubokých mykotických infekcí, která je nejčastějším klinickým projevem onemocnění způsobených tmavě pigmentovanými houbami.

Chromoblastomykóza propuká po (a) traumatické implementaci fragmentů houby ze zdroje vnějšího prostředí vpichem, což vede k počáteční kožní lézi v místě vpichu; (b) progresivním a chronickým postižením kožních a podkožních tkáňových struktur, kdy dochází k tvorbě vláknitých granulomatózních lézí s vnitřními mikroabscesy a často s proliferací do tkáně; (c) neprotektivní imunitní odpovědi pomocných T-lymfocytů typu 2 (Th2) s neefektivním zapojením humorální imunity; a (d) přítomnosti muriformních (sklerotických) buněk v postižené tkáni [7]. Morfologicky představují muriformní buňky agregaci 2 až 4 houbových buněk s příčným a podélným septem. Chromoblastomykotické léze jsou klinicky polymorfni a jsou obvykle nesprávně diagnostikovány jako různá jiná infekční i neinfekční onemocnění. V pokročilých případech může toto onemocnění vést k pracovní neschopnosti v důsledku fibrotických změn v tkáni a k řadě klinických komplikací. Pokud není onemocnění rozpoznáno v časném stadiu, může tato infekce odolávat jinak účinné terapii [1,8].

Feohyfyomykózy mohou zahrnovat kožní infekce, které se obvykle prezentují jako zánětlivé cysty, podkožní abscesy nebo verukózní léze. Rozlišení chromoblastomykóz od kožních forem feohyfyomykóz může být velmi obtížné [8]. Feohyfyomykóza je charakterizována přítomností houbových fragmentů s tmavě pigmentovanou buněčnou stěnou ve vzor-

cích tkáně (kvasinkovité, pseudovláknité nebo vláknité), samostatně nebo v kombinaci. Rozlišujeme také různé formy feohyfyomykózy: povrchové (postihující kůži a její adnexa), subkutánní, oční, zahrnující infekce vedlejších nosních dutin a nosu, hluboké tkáňové infekce a diseminované formy [9].

Chromoblastomykóza je opomíjené onemocnění hlavně v tropických a subtropických oblastech světa. Opomíjené endemické mykózy jsou důležitým celosvětovým problémem v oblasti veřejného zdraví. Obecný nedostatek povědomí odborné veřejnosti o důležitosti těchto nemocí z nich činí prioritu v oblastech, kde je nutná diagnostika a léčba. České republiky, jako součásti evropského prostoru, se osvěta týká zejména v oblasti cestovní medicíny a importovaných mykotických infekcí, nicméně v tomto přehledu bude uvedeno několik případů, které byly zdokumentovány na území České republiky a tehdejšího Československa autochtonně od šedesátých let minulého století [10–13]. Co se týče feohyfyomykózy, zde je situace poněkud odlišná, neboť se v porovnání s chromoblastomykózou můžeme s invazivními formami tohoto onemocnění setkat častěji, zvláště u imunokompromitovaných jedinců a velmi vzácně také v případě těch imunokompetentních [14–17].

Historie původu klinických pojmů chromoblastomykóza a feohyfyomykóza

První písemné poznatky o tomto druhu mykotického onemocnění se datují do roku 1914, kdy F. M. W. Rudolph přispěl do německého deníku příspěvkem „Über die Brasilianische“ [1,18]. Rudolph, který pracoval jako klinický lékař ve státě Minas Gerais ve střední Brazílii, si všiml šesti pacientů se zhoubnými lézemi na dolních končetinách, známých pod názvem „strom stromů“. Z klinických vzorků čtyř pacientů izoloval černé a sametové kultury; mikroskopická charakteristika těchto mikromycetů byla velmi podobná rysům *Fonsecaea pedrosoi*, dodnes jednoho z nejčastějších etiologických agens chromoblastomykózy v této zeměpisné oblasti [19].

Začátek vědeckého podrobnějšího zkoumání této choroby začal už v roce 1911 ve městě Sao Paulo v Brazílii, když Pedroso a Gomes pozorovali případy verukózní dermatitidy na případech čtyř brazilských pacientů [20]. Po vyloučení lepry tyto vědci zaznamenali ve vzorcích kožní biopsie přítomnost sférických nahnědlých buněk, což odpovídá v současnosti známým muriformním buňkám. Toto onemocnění bylo zpočátku považováno za kožní formu blastomykózy, a proto autoři pojmenovali tuto chorobu jako „černá blastomykóza“. Při kultivaci vzorků z kožních lézí pacientů byly pozorovány tmavé kolonie mykotického vzhledu, které byly později identifikovány jako *Phialophora verrucosa* [21]. V roce 1915 Lane a Medlar v samostatných publikacích informovali o prvním severoamerickém případě chromoblastomykózy, který byl pozorován u italského pacienta žijícího v Bostonu [22,23]. U pacienta se na pravé straně hýždí vyskytoval útvar, který byl nápadně podobný bradavčitému tuberkulóznímu vředu s varetou fialové plakové léze, avšak v nálezu histopatologického vyšetření byly popsány muriformní buňky. Lane popsal nemoc jako „novou blastomykózu“, zatímco v práci Medlar et al. byl izolát klasifikován jako *P. verrucosa* [22,23]. Po proudu izolátů z brazil-

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

ských případů nalezených Pedroso a Gomesem dospěl Emile Brumpt k závěru, že nejsou totožné s *P. verrucosa*, ale patří novému druhu *Hormodendrum pedrosoi* [24]. V ro-

ce 1936 v Argentině vytvořil Pablo Negroni po podrobných mykologických studiích původců chromoblastomykóz rod *Fonsecaea* a popsal druh *F. pedrosoi* [25].

Tabulka 1
Spektrum původců feohyfomykóz a chromoblastomykóz [9,17,46–49]

Etiologické agens	Nejčastější druh infekce	Druh
<i>Alternaria</i>	Kožní a podkožní infekce, sinusitidy, keratitidy, ABPM, diseminovaná infekce	<i>A. alternata</i>
		<i>A. infectoria</i>
		<i>Alternaria</i> spp.
<i>Acrophialophora</i>	Mozkový absces, oční a plicní infekce	<i>A. fusicapna</i>
<i>Aureobasidium</i>	Kožní a podkožní infekce, oční a vzácně hluboké infekce	<i>A. pullulans</i>
<i>Bipolaris</i>	Kožní a podkožní infekce, pneumonie, sinusitidy, oční infekce, infekce CNS, diseminované infekce	<i>B. hawaiiensis</i>
		<i>B. australiensis</i>
<i>Chaetomium</i>	Kožní a podkožní infekce, pneumonie, mozkové abscesy, otitis externa	<i>Ch. globosum</i>
		<i>Ch. perlucidum</i>
		<i>Ch. brasiliense</i>
		<i>(Ovatospora brasiliensis)</i>
<i>Cladophialophora</i>	Kožní a podkožní infekce, mozkové abscesy	<i>C. carrionii</i>
		<i>C. bantiana</i>
<i>Colletotrichum</i>	Keratitidy	<i>C. dematium</i>
<i>Curvularia</i>	Kožní a podkožní infekce, sinusitidy, keratitidy, ABPF, peritonitidy, infekce CNS, diseminované infekce	<i>C. senegalensis</i>
		<i>C. lunata</i>
		<i>C. spicifera</i>
		<i>Curvularia</i> spp.
<i>Exophiala</i>	Kožní a podkožní infekce, pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	<i>E. jeanselmei</i>
		<i>E. dermatitidis</i>
		<i>E. spinifera</i>
		<i>E. oligosperma</i>
<i>Exserohilum</i>	Kožní a podkožní infekce, keratitidy, artritidy, meningitidy a spinální infekce, diseminované infekce	<i>E. rostratum</i>
<i>Fonsecaea</i>	Kožní a podkožní infekce, mozkové abscesy	<i>F. monophora</i>
		<i>F. pedrosoi</i>
		<i>Fonsecaea</i> spp.
<i>Neoscytalidium</i>	Kožní infekce a onychomykózy, vzácně hluboké mykózy	<i>N. dimidiatum</i>
<i>Lomentospora</i>	Pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	<i>L. prolificans</i>
<i>Ochroconis</i>	Pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	<i>O. gallapova</i>
		<i>O. tshawytschae</i>
<i>Phaeoacremonium</i>	Podkožní infekce, artritidy, diseminované infekce	<i>P. parasiticum</i>
<i>Phoma</i>	Kožní a podkožní infekce, oční a vzácně hluboké mykózy	<i>Phoma</i> spp.
<i>Pyrenochaeta</i>	Kožní a podkožní infekce, keratitidy	<i>P. romerol</i>
<i>Rhinochlamydia</i>	Mozkové abscesy	<i>R. mackenziei</i>
		<i>R. aquaspersa</i>
<i>Scedosporium</i>	Pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	<i>Scedosporium</i> spp.
<i>Veronea</i>	Kožní a podkožní infekce, diseminované infekce	<i>V. botryosa</i>

Název „chromoblastomykóza“ byl poprvé použit v roce 1922 pro odlišení kožní mykotické infekce, pozorované v Brazílii, od klinického syndromu známého jako „verukózní dermatitida“ [26]. Jelikož nový název „chromoblastomykóza“ naznačuje, že etiologický původce infekce má vykazovat ve tkáni pučící kvasinkovou formu, byl navržen nový náhradní termín „chromomykóza“ místo „chromoblastomykózy“ [27]. Časem byl název chromomykóza používán jako zastřešující termín, zahrnující heterogenní a rozmanité skupiny mykotických chorob, způsobených širokým spektrem melanizovaných (tmavě pigmentovaných) hub. Tento problém byl napraven v roce 1974 týmem autorů Ajello et al., který vytvořil nový termín „feohyfomykózy“, tak aby všechny ostatní infekce byly klinicky a patologicky odlišné od chromoblastomykózy [28].

Podle současných pravidel názvosloví mykotických infekcí Mezinárodní společnosti pro lidskou a zvířecí mykologii (International Society for Human and Animal Mycology – ISHAM) jsou správné názvy těchto onemocnění chromoblastomykóza a feohyfomykóza.

Původci

Chromoblastomykóza je téměř výhradně diagnostikována v případě pacientů s plně funkční imunitou. Naproti tomu je feohyfomykóza méně specifické onemocnění, způsobené tmavě pigmentovanými houbami. Obvykle spíše tkáň nekrotizuje než proliferuje, má mnohem širší spektrum původců říše hub a je spojováno většinou s imunitními poruchami [1,29,30].

Druhy stejného rodu jsou často makro i mikro-morfologicky nerozoznatelné od sebe navzájem a pro spolehlivé rozlišení druhů je nezbytné sekvenování diagnosticky specifických úseků genů [1]. Taxonomická přiřazení se v posledních letech změnila na základě nových poznatků příbuzností, ke kterým dospěly taxonomické studie s využitím moderních molekulárních metod. Na druhou stranu, i když se počet druhů souvisejících s etiologií těchto onemocnění po molekulárně taxonomickém rozřazení zvýšil, žádnému nově vymezenému druhu nebyla připsána další klinická ani terapeutická souvislost [8].

Tmavě pigmentované mikromycety se dělí na 70 rodů a přibližně 150 druhů. Zástupci těchto rodů jsou vláknité saprofytické houby, které se nacházejí v životním prostředí. Spektrum druhů se liší podle zeměpisných lokalit a místních klimatických podmínek. Jsou to převážně půdní mikromycety, nebo se vyskytují na rozkládajících se rostlinách. Všechny druhy produkují melaninové pigmenty, které se mísí se stěnou vláken mycelia, proto je při přímém pozorování infikovaných tkání vzhled kolonií na kulturách nebo vlákních mycelia tmavý nebo černý [8]. Spektrum možných a doposud publikovaných původců chromoblastomykóz a feohyfomykóz je shrnuto v *tabulce 1*.

Epidemiologie

Potenciální zdroj infekce v životním prostředí

Melanizované (tmavě pigmentované) houby a jejich příbuzní jsou také označovány jako „demáciové“, „feózní“ nebo jednoduše „černé“ houby [8,28,31]. Tato označení se

vztahují na houby obsahující melanin, kde je mikroskopicky viditelná hnědá, olivová nebo černá pigmentace v buněčných stěnách. Původci chromoblastomykóz a feohyfomykóz byli izolováni z různých předmětů vyrobených lidskou činností, ze dřeva ošetřeného fenolovými konzervačními látkami, v toxickém důlním odpadu nebo na ropou znečištěných půdách. V přírodě se monoaromáty nachází ve stopových množstvích v rostlinných zbytcích, trnech a kůře dřeva, které právě poskytují vhodné prostředí pro tyto houby [32]. Korelace mezi traumatem, implantací z potenciálních přírodních zdrojů infekce a chromoblastomykotickou lézí je velmi signifikantní [6,33]. Tuto možnou cestu infekce podporují klinické zprávy pacientů, které prokazují přítomnost fragmentů rostlinného materiálu v místě, kde se nacházelo předchozí poranění. A ve vzácných případech jde také o fragmenty dřeva, obsahující struktury podobné muriformním buňkám, které byly histopatologicky pozorovány u pacientů s chromoblastomykózou [34].

Chromoblastomykóza je hodně spojována se zemědělskými činnostmi a bývá dávána do souvislosti s profesí jako rizikovým faktorem této choroby [35]. Jednotlivci žijící v endemických oblastech jsou pravděpodobně infikováni různými materiály z prostředí formou traumatu během pracovní činnosti [36,37]. Je však pozoruhodné, že původce chromoblastomykózy je obtížné izolovat v jeho přirozeném prostředí a saprofytickém životním stylu, přímou izolací pomocí selektivních metod jsou obvykle identifikováni ostatní saprofytické mikromycety, zatímco nálezy původců chromoblastomykóz a feohyfomykóz jsou téměř výhradně omezeny až na průkaz z teplokrevných hostitelů [38]. Invazivní potenciál původců těchto infekcí je mezidruhově významně odlišný a je zatím pochopen jen částečně. Chromoblastomykóza je lidské onemocnění a pouze vzácně bylo dokumentováno u zvířat, u ostatních živočichů, jako jsou obojživelníci a savci, jsou tyto infekce považovány za feohyfomykózy, protože typické muriformní buňky ve zvířecích vzorcích chybí [1]. Ve vzorcích z životního prostředí se mohou vyskytovat jak druhy oportunistické, tak druhy spíše saprofytické, ale obsazují každý odlišný substrát, kde jsou pro každý z těchto druhů příhodné životní podmínky. Díky této nutriční odchylce mohou být saprotrofní druhy izolovány standardními metodami, zatímco v případě oportunních patogenů je potřeba vzorky obohatit savcím vektorem [32]. Invazivní i neinvazivní druhy tmavě pigmentovaných hub mohou být přítomny ve stejném vzorku prostředí, kde mají každý jiný mikrobiotop.

Geografická distribuce

Druhy nejčastěji spojené s chromoblastomykózou patří do rodu *Fonsecaea* nebo *Cladophialophora*. Infekce způsobené zástupci rodu *Rhinochrysiella* jsou méně časté a několik případů byly spojovány s rodem *Phialophora* a také *Exophiala*. Endemicky jsou infekce *F. pedrosoi* a *C. carrionii* obvykle pozorovány v tropických a subtropických oblastech po celém světě. Existuje několik zpráv o rezervoárech nejběžnějších původců chromoblastomykóz, kdy se *C. carrionii* vyskytuje spíše v polo-aridních oblastech, zatímco druh *F. pedrosoi* je spojován s vlhkým podnebím [6,19]. Diverzita lokalit světa podle počtu dokumentovaných případů

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

chromoblastomykóz je znázorněna na *obrázku 1*. Klinicky závažné invazivní feohyfomykózy se vyskytují hlavně u imunokompromitovaných jedinců a spektrum jejich původců může být odlišné a nelze s určitostí všechny dosud dokumentované případy lokalizovat do typických oblastí světa tak, jako je tomu v případě chromoblastomykóz.

Podobně jako u většiny endemických mykóz není chromoblastomykóza chorobou podléhající oznamovací povinnosti, a v důsledku toho neexistuje možnost přesné lokalizace výskytu ani prevalence této mykotické infekce. Data shromážděná z průzkumů a sérií ojedinělých případů naznačují, že incidence chromoblastomykózy se pohybuje od 1 případu na 6 800 obyvatel (Madagaskar) do 1 případu na 8 625 000 (USA) [7]. Toto onemocnění převládá zejména v tropických a subtropických oblastech planety mezi zeměpisnými šířkami 30° S a 30° J. Většina případů byla zaznamenána v latinské Americe, Karibiku, Africe a Asii. A většina z těchto dokumentovaných případů se nacházela na území Brazílie, Mexika, Venezuely, Indie, Austrálie a jižní Číny [1].

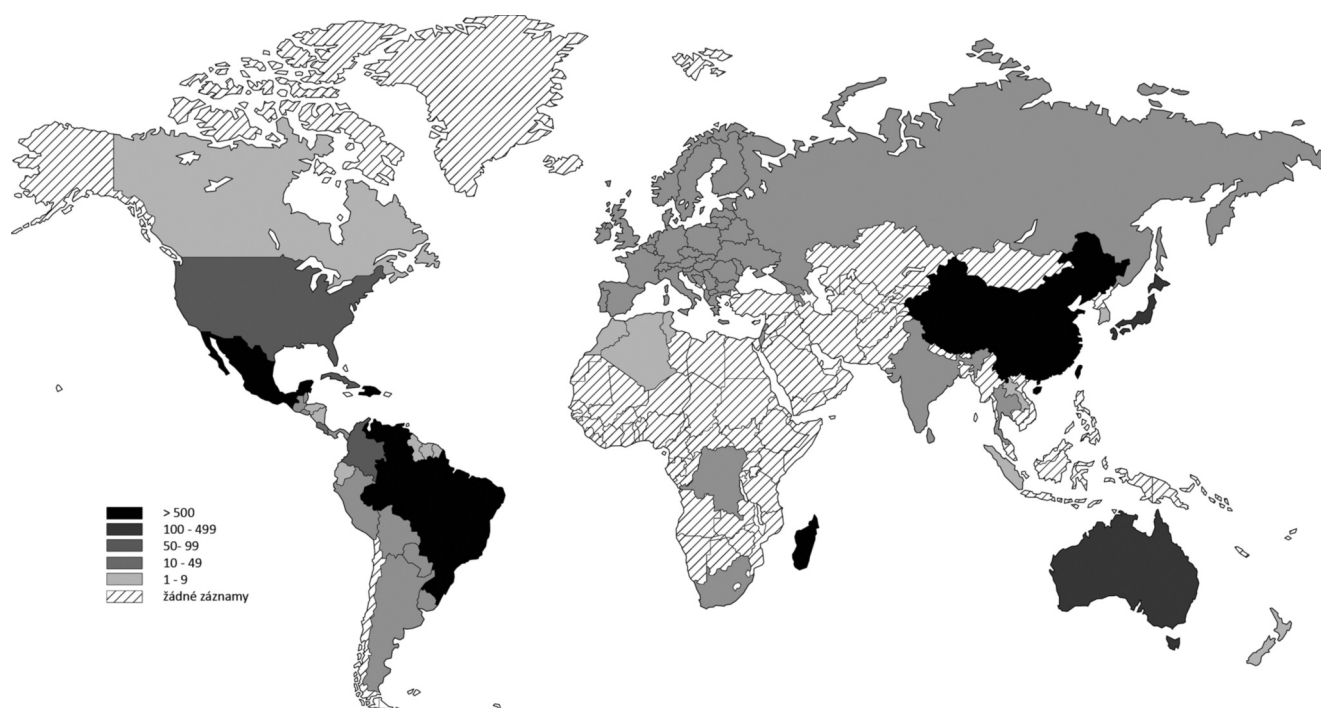
Feohyfomykózy nemusí být výhradně onemocněním kůže a podkoží, ale zvláště v případech pacientů s imunitním deficitem dochází k diseminacím do různých orgánů, a tak je incidence tohoto onemocnění těžko uchopitelná a u těchto pacientů se dá říci, že incidence na jednom onkologickém centru se může pohybovat od 1 do 1,3 případů na 100 000 pacientů během 19letého období [39]. Obecně se dá hovořit o incidenci od 1 případu na 1 milion obyvatel, v období posledních třiceti let však publikací na téma závažných případů feohyfomykóz výrazně přibýlo [9,40].

Chromoblastomykózy a feohyfomykózy v Evropě

Evropské populaci hrozí infekce chromoblastomykózou hlavně jako importované onemocnění z tropických a subtropických oblastí světa (Latinská Amerika, Asie a Afrika). Nedávné literární přehledy o chromoblastomykózách v Evropě odhalily celkem 31 pravděpodobných případů a v některých případech se mohlo jednat dokonce o autochtonní infekci, například v případě infekce horníka v dole, kde šlo o infekci způsobenou druhem *F. monophora* [41]. Chromoblastomykóza není v Evropě příliš obvyklá, nicméně i z níže uvedených případů v historii České republiky a bývalého Československa je patrné, že byly tyto případy diagnostikovány správně a nebyly zaměněny například s kožní tuberkulózou, spinocelulárním karcinomem, psoriázou a sporotrichózou, nebo jinými infekčními a neinfekčními stavy, které mohou být zdánlivě podobné chromoblastomykóze.

Druhové zastoupení původců feohyfomykóz se liší v závislosti na formách těchto infekcí. Druhy, které se nejčastěji vyskytují u alergické sinusitidy a keratitidy, patří často k rodům *Bipolaris* a *Curvularia*, zatímco například subkutánní mykózy jsou způsobeny převážně zástupci rodu *Alternaria*. Kutánní forma feohyfomykózy se obvykle projevuje jako zánětlivá cysta, v literatuře se však objevují i hluboké subkutánní abscesy a verukózní léze a zejména pacientům s oslabeným imunitním systémem nebo imunitním deficitem hrozí diseminace. Diferenciální diagnostika chromoblastomykózy od kožní feohyfomykózy může být obtížná, pokud je stanovována pouze na základě klinicko-patolo-

Obrázek 1
Světová distribuce chromoblastomykózy podle dokumentovaných případů



Tabulka 2
Publikované chromoblastomykózy a feohyfyomykózy v ČR

Etiologické agens	Nejčastější druh infekce	Druh
<i>Alternaria</i>	Kožní a podkožní infekce, diseminovaná infekce	<i>A. infectoria</i> [16]
<i>Chaetomium</i>	Kožní a podkožní infekce, otitis externa	<i>Ch. globosum</i> [50]
		<i>Ch. brasiliense</i>
		(<i>Ovatospora brasiliensis</i>) [14]
<i>Cladophialophora</i>	Mozkové abscesy	<i>C. bantiana</i> [15]
<i>Colletotrichum</i>	Keratitidy	<i>C. dematium</i> [49]
<i>Exophiala</i>	Kolonizace plic pacientů s cystickou fibrózou, pneumonie	<i>E. dermatitidis</i> [42]
		<i>F. monophora</i> [17]
<i>Fonsecaea</i>	Kožní a podkožní infekce, mozkové abscesy	<i>F. pedrosoi</i> [10–12]
		<i>Fonsecaea</i> spp. [10]
<i>Scedosporium</i>	Pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	<i>Scedosporium</i> spp. [42]

gických nálezů. Některé tmavě pigmentované mikromycety se vyvíjejí ve tkáních ve formě vláken volného mycelia nepravidelné tloušťky, jako pseudofilamenta, anebo jako kulovité buňky (kvasinkovitěho vzhledu), které je obtížné odlišit od muriformních buněk typických pro chromoblastomykózu [9,16,17]. Nejčastěji dokumentovanými původci feohyfyomykóz vůbec jsou zástupci rodu *Exophiala* a *Phialophora* [8].

Nejzávažnější formou je invazivní feohyfyomykóza, která bývá spojena se špatnou prognózou pacientů a mortalita se u takovýchto případů blíží 80 % [8]. Špatná prognóza do značné míry souvisí se stavem imunity a závažností základního onemocnění těchto pacientů. Druhy, které jsou častějšími původci invazivních feohyfyomykóz v těchto případech, pocházejí z rodů *Bipolaris*, *Exophiala*, *Fonsecaea* a také rodu *Lomentospora*. V případě imunokompetentních pacientů, kteří vykazují známky systémové feohyfyomykózy, jsou infikováni hlavně zástupci rodů *Curvularia*, *Wangiella*, *Bipolaris* a *Cladophialophora* [9,42]. Nejčastější a nejtěžší lokalizace infekce je centrální nervový systém; klinickými projevy jsou mozkové abscesy nebo meningitida. Také někteří původci chromoblastomykózy mohou být příčinou infekcí, které pak vedou k subkutánní nebo mozkové feohyfyomykóze, mezi tyto infekční agens patří nejčastěji *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea monophora*, *Phialophora verrucosa* nebo *Cladophialophora bantiana*, pravděpodobně to závisí na způsobu implantace a na imunitní odpovědi hostitele [17].

Chromoblastomykózy v ČR

V České republice se případy invazivních feohyfyomykóz vyskytují dost málo a dostupné publikované série případů jsou shrnuty v rámcovém přehledu dokumentovaných chromoblastomykóz a feohyfyomykóz v České republice od roku 1963 v tabulce 2.

První podrobnější popis o výskytu chromoblastomykózy ještě v dobách Česko-slovenska se datuje do roku 1963, kde

se u 60letého muže z územní nynějšího Slovenska objevily léze zjevně infekčního původu na levé líci, uchu a dorzální straně levé nohy. Muž pracoval jako kotelník a jeden až dva měsíce před kožními projevy infekce utrpěl popáleniny kůže na tváři a uchu po výbuchu parního kotle. Ložiska se objevila za několik týdnů od incidentu. Zpočátku měly léze makulopapulovezikulózní charakter, šířily se do periferie a pokrývaly se krustami. Ložiska nejprve svědila, a pak pálila, ložisko na noze bylo při palpaci bolestivé. Klinický obraz odpovídal hluboké mykóze. V mykologickém vyšetření šupin lézí v nativním preparátu (+20 % KOH) byly nalezeny „okrouhlé a oválné nahnědlé spóry“. V tomto případě byly kultivace provedeny z většího počtu ložisek, opakovaně a v každé z kultur do sedmi dní vyrostla tmavě pigmentovaná vláknitá mikromyceta, mikroskopicky byla zjištěna větvená a dobře septovaná vlákna, bez sporulace a fruktifikačních útvarů. Tehdejší diagnózy „chromomykóza“ bylo dosaženo charakteristickým histologickým obrazem, s tvorbou granulomů, které obsahovaly ve středu „buňky s dvojítm obrysem, ojedinele i seskupené v obrovských buňkách“ [10], dle současných znalostí se s největší pravděpodobností jednalo právě o muriformní buňky. Další tři případy byly zaznamenány v letech 1967, 1969 a 1975. V prvním a třetím zaznamenaném případě se jednalo o starší ženy, kde původce onemocnění nebyl kultivačně identifikován, nicméně ve druhém případě dělníka kamenouhelného dolu byl původcem chromoblastomykózy zřejmě *F. pedrosoi* a infekce pravděpodobně pocházela z dřevěných výztuh v dole (soudobě identifikována jako *Phialophora pedrosoi*) [11–13].

Žádný z pacientů výše uvedených případů v historii České republiky necestoval do zemí, kde byl dosud výskyt tohoto onemocnění dokumentován, a proto se dá tvrdit, že se zde jednalo o autochtonní nákazu. Méně obvyklý je také nález „*Phialophora pedrosoi*“ (*Fonsecaea pedrosoi*) v případě dělníka, *F. pedrosoi* bývá častějším původcem chromoblastomykózy v tropických a subtropických oblastech.

Demografická data a rizikové faktory

Podle většiny dokumentovaných sérií případů postihuje chromoblastomykóza hlavně dospělé muže. Rozložení pohlaví v sérii případů hlášených v jižní oblasti Brazílie ukázalo, že u mužů převládala nemoc v poměru 4 : 1. Ve dvou dalších studiích týkajících se 390 případů v roce 2006 byla ve stejné oblasti distribuce onemocnění vztažená k pohlaví mnohem vyšší u mužů, a to 17 : 1 [1]. Signifikantní rozdíl související s distribucí pohlaví u pacientů s chromoblastomykózou může souviset s hormonální ochranou, což bylo pozorováno i u pacientů s paracoccidioidomykózou [43]. V těchto případech systémových mykóz jsou ženy chráněny před klinickými projevy hormonem β -estradiolem, zatímco u chromoblastomykózy může do jisté míry hormonální ochrana souviset s progesteronem [43]. U druhu *P. verrucosa* byly identifikovány cytosolové receptory a v pokusech *in vitro* bylo zjištěno, že růst je ovlivňován hormony testosteronem, a zvláště pak progesteronem, ale nikoli estradiolem [44]. A tak jsou předchozí vysvětlení o signifikantně větším zastoupení mužů kvůli rozdílnému povolání a výkonům práce do značné míry chybná. V populaci pacientů s různými formami feohyfyomykózy je situace odlišná, signifikantní rozdíl je vidět pouze u pacientů s lokálními kožními epizodami, a to 2,2 : 1 (muži versus ženy) se zvyšující se invazivitou do organismu se poměr obou pohlaví vyrovnává a u diseminovaných forem je situace 1 : 1 [9]. Tento trend je s největší pravděpodobností ovlivněn s rostoucím imunodeficitem směrem ke skupině diseminovaných infekcí.

V Amazonii se věková distribuce pohybovala v rozmezí od 25 do 85 let, nejvíce postižená chromoblastomykózou byla skupina pacientů ve věku od 41 až do 70 let (86 %) [19]. V Mexiku u série 603 případů převládala nemoc u dospělých mužů (66 %) ve věku 38 let. Přestože je věkové rozpětí značné od 9 do 90 let, děti bývají postiženy velmi zřídka (1,2 %). V Číně je většina pacientů s chromoblastomykózou mužského pohlaví (6,7 : 1) a průměrného věku 54,75 let (ve věkovém rozmezí 10 až 81 let) [1]. Přestože chromoblastomykóza se v dětské populaci vyskytuje jen vzácně, od roku 1992 do roku 2004 bylo zaznamenáno 22 případů (ve věku 2 až 19 let) infekcí *C. carrionii*, které byly dokumentovány v polopouštní oblasti Falcón ve Venezuele [19]. Na přízpusobení etiologických původců prostředí se může rovněž podílet genetická vnímavost hostitelské tkáně. Například v brazilské práci bylo studováno 32 nesouvisejících pacientů bílé pleti s chromoblastomykózou a 77 zdravých kontrol, pacienti byli řazeni dle pohlaví, věku, etnika, profese a geografické oblasti. U těchto pacientů byla sledována distribuce antigenu HLA-A, -B, -C, -DR a -DQ. Významně byla zvýšena pouze frekvence výskytu HLA-A29. Tento antigen byl přítomen u 28 % pacientů, na rozdíl od 4 % kontrol ($p = 0,03$). Tato zjištění naznačují možnou genetickou dispozici k chromoblastomykóze. U lidí s výskytem HLA-A29 je riziko výskytu tohoto onemocnění desetkrát vyšší než u běžné populace [45]. Podobně jako u jiných mykotických infekcí může nedostatečná ochranná obuv, rukavice nebo oděvy ve spojení se špatnými hygienickými návyky a nedostatečnou výživou vést k riziku rozvoje klinických forem chromoblastomykózy po infekci implantací do kožního poranění [1].

Závěr

Případy chromoblastomykóz jsou v některých oblastech světa frekventované, zvláště v mnoha rozvojových zemích, ale přesto je toto endemické onemocnění pro tropické a subtropické oblasti poměrně podceňované. Příčiny chromoblastomykóz se liší v závislosti na globální geografické distribuci a přírodních rezervoárech původců. Chromoblastomykóza se týká většinou dospělé mužské populace a je po celém světě považována za nemoc z povolání, ovlivňující zemědělece, zahradníky, dřevorubce, prodejce zemědělských produktů a další pracovníky vystavené kontaminované půdě a práci s materiály rostlinného původu. Vysvětlením, proč tomu tak je, je podle některých studií v rozdílné hormonální aktivitě mužské a ženské populace, zvláště pak vlivem ochranného potenciálu progesteronu. Feohyfyomykózy, invazivní infekce způsobené tmavě pigmentovanými mikroskopickými houbami, jsou vzácné, zvláště ty, které postihují centrální nervovou soustavu, ale jejich rozšíření je celosvětové, a to i z toho důvodu, že postihují převážně imunokompromitované pacienty. I když se v minulosti vzácně vyskytly dokonce případy autochtonní nákazy chromoblastomykózy, riziko pro Českou republiku spočívá spíše v souvislosti se vzrůstající cestovatelskou tendencí obyvatelstva do endemických krajín a s tímto onemocněním se můžeme setkat ve formě importované infekce.

Tato práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (LO1509).

Literatura

1. Queiroz-Telles F, de Hoog S, Santos DWC, et al. Chromoblastomycosis. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(1):233–276.
2. Organization WH. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected diseases: World Health Organization; 2013.
3. van de Sande WW, Fahal AH, Goodfellow M, Welsh O, Zijlstra E. The mycetoma knowledge gap: identification of research priorities. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(3):e2667.
4. WHO. Report of the Tenth Meeting of the WHO Strategic and Technical Advisory Group for Neglected Tropical Diseases. World Health Organization Geneva; 2017.
5. WHO. Report of the Tenth Meeting of the WHO Strategic and Technical Advisory Group for Neglected Tropical Diseases. World Health Organisation, Geneva, 2018.
6. Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falci DR, et al. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(11):e367–e377.
7. Queiroz-Telles F, Nucci M, Colombo AL, Tobon A, Restrepo A. Mycoses of implantation in Latin America: an overview of epidemiology, clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Med Mycol.* 2011;49(3):225–236.
8. Thomas E, Bertolotti A, Barreau A, et al. From phaeohyphomycosis to disseminated chromoblastomycosis: A retrospective study of infections caused by dematiaceous fungi. *Med Mal Infect.* 2018;48(4):278–285.
9. Revankar SG, Baddley JW, Chen SC, et al. A Mycoses Study Group International Prospective Study of Phaeohyphomycosis: An Analysis of 99 Proven/Probable Cases. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(4): ofx200.
10. Chmel L, Svobodova Y, Ranincova A. 1st Case of Chromomycosis in the Czechoslovakian SSR. *Ces Derm.* 1963;38:145–150.
11. Holý V, Hula M, Tomšíková A. The second case of chromomycosis in Czechoslovakia. *Ces Derm.* 1967;42(2):73–76.
12. Horacek J, Ulicna L. The 3rd case of chromomycosis in Czechoslovakia. (Case report). *Ces Derm.* 1969;44(2):118–120.

13. Vortel V, Kraus Z. Another case of chromomycosis on the territory of Czechoslovakia assessed by istological means. *Ces Derm.* 1975; 50(5):325–326.
14. Hubka V, Mencl K, Skorepova M, Lyskova P, Zalabska E. Phaeohyphomycosis and onychomycosis due to *Chaetomium* spp., including the first report of *Chaetomium brasiliense* infection. *Med Mycol.* 2011; 49(7):724–733.
15. Husova L, Kocmanova I, Zampachova V, et al. *Cladophialophora bantiana* in a liver transplant recipient. *Surg Infect.* 2015;16(2):211–212.
16. Lyskova P, Kubanek M, Hubka V, et al. Successful Posaconazole Therapy of Disseminated *Alternaria* infection in a Heart Transplant Recipient. *Mycopathologia.* 2017;182(3–4): 297–303.
17. Dobias R, Filip M, Vragova K, et al. Successful surgical excision of cerebral abscess caused by *Fonsecaea monophora* in an immunocompetent patient and review of literature. *Folia Microbiol.* 2019;64(3): 383–388.
18. Rudolph M. Über die brasilianische “Figueira”(Vorläufige Mitteilung). *Arch Schiff's Tropen-Hyg* 1914;18:498–499.
19. de Andrade TS, de Almeida AMZ, Basano SA, et al. Chromoblastomycosis in the Amazon region, Brazil, caused by *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea nubica*, and *Rhinocladiella similis*: Clinicopathology, susceptibility, and molecular identification. *Med Mycol.* 2020;58(2): 172–180.
20. Pedroso A, Gomes J. Four cases of dermatitis verrucosa produced by *Phialophora verrucosa*. *Ann Paulista Med.* 1920;9:53.
21. Rippon JW. Medical mycology; the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes: Eastbourne, UK; WB Saunders Company; 1982.
22. Lane C. A cutaneous disease caused by a new fungus *Phialophora verrucosa*. *J Cutan Dis.* 1915;33:840–846.
23. Medlar E. A cutaneous infection caused by a new fungus, *Phialophora verrucosa*, with a study of the fungus. *J Med Res.* 1915;32(3):507.
24. Brumpt E. Précis de parasitologie: Masson; 1922.
25. Negroni P. Estudio micológico del primer caso argentino de cromomycosis. 1936.
26. Terra M, Torres M, Fonseca FO, et al. Novo tipo de dermatite verrucosa: micose por acrotheca com associação de leishmaniose. 1922.
27. Moore M, Almeida F. Etiologic agents of chromomycosis (chromoblastomycosis of Terra, Torres, Fonseca and Leão, 1922) of North and South America. *Rev Biol Hyg.* 1935; 6:94–97.
28. Ajello L, Georg LK, Steigbigel RT, Wang C. A case of phaeohyphomycosis caused by a new species of *Phialophora*. *Mycologia.* 1974; 66(3):490–498.
29. Huang C, Zhang Y, Song Y, et al. Phaeohyphomycosis caused by *Phialophora americana* with CARD9 mutation and 20-year literature review in China. *Mycoses.* 2019;62(10):908–919.
30. Wang C, Xing H, Jiang X, et al. Cerebral Phaeohyphomycosis Caused by *Exophiala dermatitidis* in a Chinese CARD9-Deficient Patient: A Case Report and Literature Review. *Front Neurol.* 2019;10:938.
31. Ferrandiz-Pulido C, Martín-Gomez MT, Repiso T, et al. Cutaneous infections by dematiaceous opportunistic fungi: Diagnosis and management in 11 solid organ transplant recipients. *Mycoses.* 2019;62(2): 121–127.
32. Vicente V, Attili-Angelis D, Pie M, et al. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. *Stud Mycol.* 2008;61:137–144.
33. Vallabhaneni S, Purfield AE, Benedict K, et al. Cardiothoracic surgical site phaeohyphomycosis caused by *Bipolaris* mould, multiple US states, 2008–2013: a clinical description. *Med Mycol.* 2016;54(3): 318–321.
34. Salgado CG, Silva JPD, Diniz JAP, et al. Isolation of *Fonsecaea pedrosoi* from thorns of *Mimosa pudica*, a probable natural source of chromoblastomycosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo.* 2004;46(1):33–36.
35. Al-Doory Y. Chromomycosis. In: Di Salvo AF (ed) Occupational mycoses. *Lea & Febiger, Philadelphia, PA* 1983; pp 95–121.
36. Menezes N, Varela P, Furtado A, et al. Chromoblastomycosis associated with *Fonsecaea pedrosoi* in a carpenter handling exotic woods. *Dermatol Online J.* 2008;14(2):9–9.
37. Lu S, Lu C, Zhang J, et al. Chromoblastomycosis in Mainland China: a systematic review on clinical characteristics. *Mycopathologia.* 2013; 175(5–6):489–495.
38. Vicente VA, Angelis DAd, Queiróz-Telles Filho F, Pizzirani-Kleiner AA. Isolamento de fungos herpotriqueláceos do ambiente. *Braz J Microbiol.* 2001;32(1):47–51.
39. Garnica M, Nucci M, Queiroz-Telles F. Difficult mycoses of the skin: advances in the epidemiology and management of eumycetoma, phaeohyphomycosis and chromoblastomycosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2009; 22(6):559–563.
40. Silveira F, Nucci M. Emergence of black moulds in fungal disease: epidemiology and therapy. *Curr Opin Infect Dis.* 2001;14(6):679–684.
41. Pindycka-Piaszczyńska M, Krzyściak P, Piaszczyński M, et al. Chromoblastomycosis as an endemic disease in temperate Europe: first confirmed case and review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(3):391–398.
42. Schwarz C, Bouchara J-P, Buzina W, et al. Organization of patient management and fungal epidemiology in cystic fibrosis. *Mycopathologia.* 2018;183(1):7–19.
43. Shankar J, Restrepo A, Clemons KV, Stevens DA. Hormones and the resistance of women to paracoccidioidomycosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(2):296–313.
44. Hernandez-Hernandez F, De Bievre C, Camacho-Arroyo I, et al. Sex hormone effects on *Phialophora verrucosa* in vitro and characterization of progesterone receptors. *J Med Vet Mycol.* 1995;33(4):235–239.
45. Yegüez-Rodríguez J, Richard-Yegres N, Yegres F, Rodríguez-Larralde A. Cromomycosis: susceptibilidad genética en grupos familiares de la zona endémica en Venezuela. *Acta Cient. Venez.* 1992;43: 98–102.
46. Chowdhary A, Meis JF, Guarro J, et al. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of systemic phaeohyphomycosis: diseases caused by black fungi. *Clin Microbiol Infect.: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2014;20 Suppl 3:47–75.
47. Badali H, Khodavaisy S, Fakhim H, et al. In Vitro Susceptibility Profiles of Eight Antifungal Drugs against Clinical and Environmental Strains of *Phaeoacremonium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(12):7818–7822.
48. Badali H, Bonifaz A, Barron-Tapia T, et al. *Rhinocladiella aquaspersa*, proven agent of verrucous skin infection and a novel type of chromoblastomycosis. *Med Mycol.* 2010;48(5):696–703.
49. Buchta V, Nekolova J, Jiraskova N, et al. Fungal Keratitis Caused by *Colletotrichum dematium*: Case Study and Review. *Mycopathologia.* 2019;184(3):441–453.
50. Hubka V. *Chaetomium*. In: Paterson RRM, Lima NMVS eds. Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi of Humans. Boca Raton, CRC Press 2015; pp 211–228.

Terapie chromoblastomykózy a feohyfomykózy

R. DOBIÁŠ¹, V. HAVLÍČEK²

¹Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, oddělení bakteriologie a mykologie;

²Laboratoř charakterizace molekulárních struktur, Mikrobiologický ústav, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

SOUHRN

Dobiáš R., Havlíček V.: **Terapie chromoblastomykózy a feohyfomykózy**

Případy chromoblastomykóz jsou v některých oblastech světa frekventované, zvláště v některých rozvojových zemích. Klinická manifestace onemocnění chromoblastomykózou je typická. Původci vyvolávající onemocnění chromoblastomykózou se do jisté míry překrývají s původci feohyfomykóz. Případy feohyfomykóz se nevyskytují příliš často, ale nezřídka se zde setkáváme s fatálním koncem, a proto je včasná terapie a aktuální management těchto život ohrožujících infekcí velmi důležitý. Cílená antimykotická terapie se spolu s chirurgickým zákrokem stává účinným nástrojem v boji s těmito infekcemi, zvláště v poslední době máme pro tento účel k dispozici několik triazolových preparátů, jako je posaconazol a případně isavuconazol, které mohou pomoci při léčbě i těch nejtěžších pacientů. Prevence infekce by měla být zaměřena na snížení nebezpečí traumatu do podkoží, zvláště u osob, které přicházejí do kontaktu s možným zdrojem nákazy, například s importovanými dřevěnými materiály z endemických oblastí.

Klíčová slova: chromoblastomykóza, feohyfomykóza, antimykotická terapie, management

SUMMARY

Dobiáš R., Havlíček V.: **Treatment of chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis**

Cases of chromoblastomycosis are frequent in certain parts of the world, especially in some developing countries. Clinical manifestations of chromoblastomycosis are typical. To a certain extent, pathogens causing chromoblastomycosis overlap with those causing phaeohyphomycosis. Although cases of phaeohyphomycosis are not very common, they may end fatally. Therefore early management of these life-threatening infections is rather important. Targeted antifungal therapy and surgery are effective in combating these infections. Recently, several triazole antifungals such as posaconazole and isavuconazole have been available to treat even the most severe cases. Prevention of the infection should be aimed at reducing the risk of subcutaneous trauma, particularly in persons in contact with potential sources of infection such as wood materials important from endemic areas.

Keywords: chromoblastomycosis, phaeohyphomycosis, antifungal therapy, management

Klin mikrobiol inf lék 2020;26(2):62–68

Adresa: Mgr. Radim Dobiáš, Ph. D., Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava; e-mail: radim.dobias@zuova.cz

Došlo do redakce: 25. 3. 2020

Přijato k tisku: 16. 7. 2020

Úvod

Chromoblastomykóza vzniká po průniku fragmentů houby do organismu z vnějšího prostředí, nejčastěji vpichem, což vede nejprve k vytvoření kožní léze a postižení kožních a podkožních tkáňových struktur. Následuje tvorba vláknitého granulomu s vnitřními mikroabscesy a proliferací do tkáně. Nejcharakterističtější je přítomnost muriformních (sklerotických) buněk v postižené lokalitě. Léze jsou klinicky různorodé a často nesprávně diagnostikovány jako jiná infekční i neinfekční onemocnění. Zmíněná mykóza může v pokročilých případech vést až k pracovní neschopnosti v důsledku fibrotických změn ve tkáni a řadě souvisejících

klinických komplikací. Pokud není onemocnění rozpoznáno v časném stadiu, může tato infekce odolávat jinak účinné terapii [1].

Feohyfomykózy jsou infekce, které se obvykle prezentují na kůži jako zánětlivé cysty, podkožní abscesy nebo verukózní léze. Rozlišení chromoblastomykóz od kožních forem feohyfomykóz může být velmi obtížné [2]. Feohyfomykóza je charakterizována přítomností houbových elementů (kvasinkovitých, pseudovláknitých nebo vláknitých) s tmavě pigmentovanou buněčnou stěnou ve vzorcích tkáně, samostatně nebo v kombinaci. Kromě již zmíněné povrchové formy se vyskytují i subkutánní, oční, paranazální, hluboké

tkáňové a diseminované [2]. Od prvního případu chromoblastomykózy, dokumentovaného v průběhu minulého století, bylo v literatuře popsáno několik různých terapeutických možností, které zahrnují fyzikální metody a lokální i systémovou terapii antimykotiky. S výjimkou malých počátečních ložisek, které mohou být odstraněny chirurgicky, jsou léze při chromoblastomykózách refrakterní a je téměř nemožné dosáhnout zhojení [3,4]. Chybí randomizované a srovnávací klinické studie a také jednotný způsob pro výběr optimální terapie, který je založen spíše na zkušenostech z ojedinělých sledování souborů pacientů a kazuistikách. Obecně platí, že pacienti se závažnými a pokročilými formami onemocnění vyžadují dlouhodobou systémovou antimykotickou terapii [5]. Z těchto důvodů se v tomto článku nebudeme zabývat alternativními způsoby léčby chromoblastomykóz a feohyfomykóz, jako jsou kryoterapie, léčba horkem, laserová nebo fotodynamická terapie [1].

Tmavě pigmentované houby, původci infekcí, jsou kosmopolitní a široce rozšířené v životním prostředí. Proto může nález těchto hub často představovat pouhou kontaminaci odebraného materiálu či kožní kolonizaci. Průběh infekce se u jednotlivých druhů může lišit, také v návaznosti na odlišnou citlivost k antifungálním preparátům, takže pro klinický „management“ je důležitá identifikace na úrovni druhu [6,7].

Konvenční chirurgie

Není pochyb o tom, že při léčbě chromoblastomykózy mohou být nejlepší variantou chirurgické zákroky. Operační odstranění ložisek se doporučuje u všech malých a dobře ohraničených kožních lézí. Tento přístup však s sebou nese jisté riziko diseminace, kterému lze předejít kombinací s antimykotickou léčbou [5]. Zcela zásadní je pak chirurgická excize v případě hluboké feohyfomykózy. Ta je však limitována možností zákrok vůbec provést a závisí do jisté míry i na základním onemocnění postiženého pacienta. Chirurgická intervence v kombinaci s antimykotickou terapií může výrazně snížit mortalitu pacientů [8,9].

Citlivost původců chromoblastomykóz a feohyfomykóz k antimykotikům *in vitro*

Spektrum dokumentovaných původců chromoblastomykóz a feohyfomykóz s jejich rozsahem minimálních inhibičních koncentrací (MIC) antimykotik je shrnuto v *tabulce 1*. Klinický efekt léčby je u pacientů postižených chromoblastomykózou nebo feohyfomykózou závislý na fungicidní aktivitě použitého léčiva, ale také na jeho farmakologickém profilu, klinickém obrazu a závažnosti infekce. U těchto agens je proto nutná standardizace testování citlivosti k antimykotikům, aby bylo dosaženo optimálního klinického efektu léčby [7]. Problematická může být reprodukovatelnost a klinická korelace výsledků MIC, generovaných různými metodami používanými v celosvětovém měřítku [6,7]. Obecně je stanovení citlivosti k antimykotikům *in vitro* užitečné pro vyhodnocení rezistence, ale nemusí být vhodné pro predikci klinické odpovědi pacienta na terapii antimykotiky *in vivo*. Dalším problémem je metodický postup přípravy inokula pro testování citlivosti k antimykotikům s vy-

užitím hyf a konidií z narostlé kultury a nikoli muriformních buněk. Ty představují propagační částice původců chromoblastomykózy, u nichž během infekce dochází k diferenciaci buněk a meristematickému růstu. Výsledkem je muriformní transformace buněk, které jsou pak považovány za vysoce rezistentní a mohou reagovat odlišně na expozici antimykotiky. Výsledky testů citlivosti by proto měly být vždy interpretovány s opatrností.

Přes výše popsaná omezení naznačují četné studie, že druhy rodu *Fonsecaea* jsou *in vitro* dobře citlivé k několika triazolům, včetně itraconazolu, vorikonazolu, posakonazolu a isavukonazolu, ale nikoli k flukonazolu, 5-fluorocytosinu a amfotericinu B [10]. Existuje několik prací zaměřených na rozdíly v antimykotické citlivosti mezi druhy stejného rodu, ale při testování *Fonsecaea pedrosoi*, *F. monophora* a *F. nubica* vykazovaly všechny kmeny nízké hodnoty MIC pro itraconazol, vorikonazol, posakonazol i isavukonazol. Vyšší hodnoty MIC byly u všech druhů zjištěny v případě amfotericinu B, anidulafunginu, kaspofunginu a flukonazolu. Hodnoty MIC pro vorikonazol a isavukonazol byly u *F. pedrosoi* 1 až 2krát vyšší než v případě *F. nubica* a *F. monophora*. Posakonazol vykazoval významnou *in vitro* aktivitu proti všem testovaným druhům, což ukazuje, že tento preparát může mít velký potenciál při léčbě chromoblastomykózy nebo feohyfomykózy [11].

Dalším antimykotikem, u kterého byla zjištěna *in vitro* aktivita proti zástupcům rodu *Fonsecaea* a dalším etiologickým agens chromoblastomykóz, je terbinafin [12]. Tento derivát alylamínu byl použit k léčbě pacientů s tímto onemocněním v Japonsku a na Madagaskaru, a to s dobrou klinickou odpovědí [7]. K přesnějšímu určení role zmíněného antimykotika v terapii chromoblastomykózy je však zapotřebí více údajů, včetně srovnávacích studií. V případech invazivní feohyfomykózy má terbinafin, vzhledem ke své farmakokinetice, jen omezené využití, neboť se udržuje ve vysokých koncentracích spíše v kůži a jejích adnexách, proto může mít uplatnění spíše v případech lokalizovaných kožních mykóz.

Cladophialophora carrionii, *C. bantiana* a další převážně environmentální druhy rodu *Cladophialophora* (*C. yegresii*, *C. saturnica* a *C. immunda*) jsou *in vitro* citlivé na triazoly. V různých studiích byla zjištěna vysoká míra jejich citlivosti k posakonazolu, isavukonazolu, vorikonazolu, itraconazolu a terbinafinu s mírně vyššími hodnotami MIC těchto triazolů při testování izolátů z Latinské Ameriky a porovnání s jinými kontinenty [13]. Kombinovaná antifungální terapie může být využita při závažných a invazivních infekcích. Někteří autoři zdokumentovali lepší klinickou odpověď u kombinace itraconazolu s 5-fluorocytosinem v případě refrakterních případů chromoblastomykóz [14]. Pokud byl amfotericin B kombinován s itraconazolem nebo terbinafinem [10], nebyla pozorována synergie ani antagonismus. Synergická interakce byla pozorována pouze u jediného izolátu *C. carrionii* při kombinaci terbinafinu s itraconazolem. Souhrnně lze říci, že itraconazol, posakonazol, vorikonazol a isavukonazol vykazují v současné době nejlepší aktivitu *in vitro* proti původcům chromoblastomykóz a feohyfomykóz, zatímco amfotericin B, flukonazol a echinokandiny mají obvykle jen omezený účinek. Sekundární antimykotická rezistence je neobvyklá, ale mělo by se na ni pomýšlet,

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Tabulka 1
Spektrum původců feofnyomykóz a chromoblastomykóz a přehled profilů jejich antifungální citlivosti *in vitro* [6, 7, 9, 32–34]

Etiologické agens	Nejčastější druh infekce	Citlivost <i>in vitro</i> (rozsah MIC, mg/L)									
		Amb	Itra	Vori	Posa	Isavu	5-FC	Flu	Echi	Terb	
<i>Alternaria</i>	Kožní a podkožní infekce, sinusitidy, keratitidy, ABPM, diseminovaná infekce	0,25–1	0,25–1	1–4	0,12–0,5	0,5–2	8–64	8–32	0,5–1	> 16	
		0,25–1	0,25–1	1–4	0,06–0,12	-	16–64	16–32	1	> 8	
		0,03–4	0,5–1	1–2	0,03–1	0,5–2	16–64	16–64	> 16	> 16	
<i>Acrophialophora</i>	Mozkový absces, oční a plicní infekce	0,25–4	0,06–0,25	0,12–2	0,125–2	-	> 64	8–32	-	-	
<i>Aureobasidium</i>	Kožní a podkožní infekce, oční a vzácně hluboké infekce	0,01–16	0,01–2	0,01–16	0,01–4	-	4–64	0,06–8	-	-	
<i>Bipolaris</i>	Kožní a podkožní infekce, pneumonie, sinusitidy, oční infekce, infekce CNS, diseminované infekce	0,12–0,25	0,03–0,5	0,25–2	0,03–0,5	-	> 64	2–32	0,5–1	-	
		0,06–0,12	0,25–0,5	0,05–1	0,06	-	> 64	8–16	1	-	
<i>Chaetomium</i>	Kožní a podkožní infekce, pneumonie, mozkové abscesy	0,5–8	0,03–0,5	0,5	-	-	32–64	> 64	-	-	
		0,25	0,01–0,06	0,5	0,06–0,12	-	-	-	8–16	-	
<i>Cladophialophora</i>	Kožní a podkožní infekce, mozkové abscesy	0,5–8	0,01–0,12	0,01–0,12	0,01–0,06	0,01–1	-	4–64	0,25–4	0,01–1	
		0,12–8	0,01–0,25	0,12–4	0,01–0,25	0,01–1	0,25	16–64	1–8	0,03	
<i>Curvularia</i>	Kožní a podkožní infekce, sinusitidy, keratitidy, ABPF, peritonitidy, infekce CNS, diseminované infekce	0,06–0,5	0,06–1	0,12–4	0,03–0,5	1–4	> 64	2–16	0,5–2	-	
		0,12–16	0,12–16	0,25–2	0,03–2	1–4	> 64	2–64	0,5–16	0,06	
		0,03–4	0,03–8	0,25–4	0,03–2	0,5–4	> 64	4–64	0,25–2	0,125	
<i>Exophiala</i>	Kožní a podkožní infekce, pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	0,06–16	0,03–16	0,15–16	0,03–4	1–4	> 64	1–64	0,5–16	-	
		0,25–2	0,01–0,25	0,06–2	0,01–0,06	0,25–2	-	8–32	0,06–8	-	
		0,01–0,5	0,03–0,5	0,06–1	0,03–0,25	0,03–1	-	2–32	0,25–8	-	
		0,25–4	0,01–0,12	0,06–1	0,01–0,06	2	0,12–64	16–64	4	0,03–2	
<i>Exserohilum</i>	Kožní a podkožní infekce, keratitidy, artritidy, meningitidy a spinální infekce, diseminované infekce	1	0,125	0,5	0,03	2	-	-	2–4	0,125	
		0,03–0,12	0,03–0,12	0,03–1	0,03–0,12	-	-	-	0,03–16	0,03–0,25	
<i>Fonsecaea</i>	Kožní a podkožní infekce, mozkové abscesy	0,5–4	0,03–0,25	0,12–1	0,01–0,06	0,06–1	-	8–64	1–4	-	
		0,5–8	0,03–0,5	0,12–0,5	0,03–0,5	0,06–0,5	-	8–32	2–16	0,03–0,25	
		0,5–8	0,03–0,5	0,125–1	0,01–0,5	0,06–1	-	8–64	1–8	-	
<i>Neoscytalidium</i>	Kožní infekce a onychomykózy, vzácně hluboké mykózy	0,06–1	0,03–16	0,03–4	0,06–32	-	-	0,25–32	0,06–16	0,06–2	
<i>Ochroconis</i>	Pneumonie, mozkové abscesy, diseminované infekce	0,12–1	0,01–0,5	0,12–2	0,01–0,12	-	16–64	16–64	1–8	0,03–1	
		4	0,5	0,12	-	-	-	> 64	0,25	-	
<i>Phaeoacremonium</i>	Podkožní infekce, artritidy, diseminované infekce	0,25–2	0,12–16	0,06–0,5	0,03–0,5	0,5–4	-	8–64	4–16	0,5–2	
<i>Phoma</i>	Kožní a podkožní infekce, oční a vzácně hluboké mykózy	0,5–1	0,25–8	0,25–8	-	-	-	-	-	-	
<i>Pyrenochaeta</i>	Kožní a podkožní infekce, keratitidy	4	0,5	4	0,5	0,12	-	> 64	8	-	
<i>Rhinoctadiella</i>	Mozkové abscesy	1–16	0,01–0,25	0,01–2	0,01–0,25	-	4–16	16–64	1–8	-	
		1–2	0,06–0,12	2	0,06–0,25	2	-	32–64	8	-	
<i>Veronaea</i>	Kožní a podkožní infekce, diseminované infekce	8–16	0,25–1	1–8	0,03–0,25	4–16	-	> 64	2–16	1–4	

pokud pacienti na antimykotickou léčbu nereagují, nebo došlo-li k relapsu i přes dodržení správného dávkování. V ideálním případě by měly být během léčby sledovány hladiny triazolů v séru.

Antimykotická terapie

Itrakonazol a terbinafin

Itrakonazol je považován podle několika nekomparativních klinických studií za lék volby při terapii chromoblastomykóz a je také v těchto případech nejčastěji používaným antimykotikem. Míra léčebného účinku itrakonazolu se pohybuje v rozmezí 15 až 80 % [6,7,14]. Má příznivý bezpečnostní profil [1,15] a ve formě tablet vykazuje klinicky významnou aktivitu proti většině původců chromoblastomykóz a feohyfomykóz. Je účinnější vůči *C. carrionii* než *F. pedrosoi* [1,11]. Pro dospělé a dospívající se obvykle doporučují dávky od 200 do 400 mg/den. Délka léčby se liší; většina případů vykazuje zlepšení během 8 až 10 měsíců [6]. Přestože je terapií dosaženo mykologicky negativních kontrolních vzorků, je tento lék podáván většinou do té doby, až jsou splněna kritéria úplného vyléčení, nebo dojde-li k redukci lézí [4,6]. Pro odstranění zbývajících fokusů lze následně použít chirurgickou excizi. Kvůli nedostatku střevní resorpce a následně nízkým hladinám antimykotika v plazmě a tkáních, se doporučuje přímý monitoring v séru. Dokumentovány byly také úspěšné případy léčby itrakonazolem po 6 až 12 měsících pulzní terapie, sestávající ze sekvenčních období (1 týden za měsíc) podávání 400 mg denně [6,16]. Chybí však srovnávací klinické studie pro podporu tohoto přístupu. U pacientů, kteří dostávají další léky, metabolizované touto cestou, je třeba se zabývat i jejich interakcemi v důsledku konkurující inhibice cytochromu P450 (CYP) 3A4.

Druhým nejčastěji používaným antimykotikem pro léčbu chromoblastomykózy je terbinafin. Efekt terapie uvedeným antimykotikem je podobný itrakonazolu [7,17]. Jedná se o perorálně podávaný derivát alylaminu s fungistatickými až fungicidními účinky, které probíhají prostřednictvím inhibice skvalen-epoxidázy, narušující biosyntézu ergosterolu a funkčnost cytoplazmatické membrány. Na rozdíl od triazolových derivátů, které jsou metabolizovány cestou CYP3A4, využívá terbinafin CYP2D6. Interakce obou těchto léčiv jsou při současném užívání pro tuto alylamínovou sloučeninu minimální. Doporučené dávky jsou 250 až 500 mg/den; délka léčby závisí na dosažení mykologické negativity klinických vzorků nebo vymizení kožních lézí. Terbinafin může být pro terapii výhodnější než itrakonazol v tom, že mívá méně interakcí s ostatními léčivy a může vykazovat antifibrotický účinek, což bylo potvrzeno při testování *in vitro* [1,18].

Výše popsané přístupy k antimykotické terapii se týkají hlavně léčby lehčích forem onemocnění, lokalizovaných kožních infekcí, subkutánních nodulů, mycetomů a keratitid. U imunokompetentních pacientů jsou v případě plicních infekcí a současném výskytu nodulu stále platná doporučení terapie amfotericinem B v první linii kombinované s chirurgickou excizí (BIII) s deescalací na vhodný triazol při prolongované léčbě (BIII) [6]. V recentní literatuře se však dostávají do popředí kazuistiky pacientů, u nichž byl použit

v první linii triazol, a to nejen v případech snížené citlivosti některých původců systémových feohyfomykóz k amfotericinu [2,7,9]. Úspěšnost terapie při infekcích centrální nervové soustavy a u mozkových abscesů je do značné míry závislá na chirurgické excizi (AII), jelikož výsledky samotné terapie antimykotiky nejsou dostatečné. Některé kazuistiky popisují dobrý efekt vorikonazolu a posakonazolu kvůli lepšímu průniku těchto triazolů do mozkové tkáně (CII) [19–21]. V tabulce 2 jsou shrnuta doporučení pracovních skupin pro cílenou léčbu a management feohyfomykóz společností ESCMID/ECMM (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases/European Confederation of Medical Mycology) podle lokalizace infekcí.

Kombinovaná systémová antimykotická léčba

Uvedená terapie se často uplatňuje při záchranné léčbě pacientů s invazivní refrakterní mykózou, kdy bývá použita kombinace systémových antimykotik. Tato strategie, anebo chirurgická intervence jsou obvykle posledními možnostmi v léčbě chromoblastomykóz. Neexistují však žádné důkazy, které by upřednostňovaly kombinace dvou systémových antimykotik před monoterapií. V některých případech chromoblastomykózy, kde byly itrakonazol a terbinafin používány po delší dobu samostatně a selhaly, byly např. ve studii Gupta et al. použity oba léky v alternativní modalitě a společně, což může v některých případech zvýšit efektivitu terapie a zachránit některé problematické případy [22]. Avšak studie *in vitro* neprokázaly synergii ani antagonismus této kombinace [10]. Lze ji tedy použít jen ve speciálních případech, které nereagují na předchozí léčbu. Vynikajících výsledků bylo dosaženo u několika pacientů, vykazujících středně těžké až těžké klinické formy chromoblastomykózy, využitím léčebné kombinace itrakonazolu a 5-fluorocytosinu [14]. Problémem ovšem je, že ve většině zemí, kde se zmíněné onemocnění vyskytuje ve větší míře, není 5-fluorocytosin dostupný. Pacienti navíc musí užívat velké množství tablet denně, což má za následek větší diskomfort [1].

Ostatní triazoly

Mezi triazoly nové generace s rozšířeným spektrem se jako nejslibnější pro léčbu všech klinických projevů chromoblastomykóz jeví posakonazol [2,6,8]. Jeho spektrum *in vitro* zahrnuje většinu melanizovaných hub, způsobujících chromoblastomykózy a feohyfomykózy [6,21,23]. Dříve byla dostupná pouze perorální suspenze, která má lepší farmakodynamické a farmakokinetické vlastnosti než tabletová forma itrakonazolu. Doporučená denní dávka perorální suspenze posakonazolu u pacientů s chromoblastomykózou je 2 × 400 mg, a to i v případě prolongované terapie [6]. Poměrně dobré zkušenosti jsou při systémových feohyfomykózách s nedávno na trh uvedenou tabletovou a intravenózní formou. Zvláštní význam mají tablety posakonazolu s opožděným uvolňováním. U pacientů s nádory se zdá, že vstřebávání tohoto preparátu je jen minimálně ovlivněno podpůrnými faktory, jako je požití potravy, zvýšené pH žaludku, zhoršená pohyblivost nebo mukozitida. Publikovaná data odhalila, že tablety mohou také dosáhnout vyšších průměrných plazmatických koncentrací, než je tomu v případě perorálního roztoku [24,25]. Kombinace posakonazolu

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Tabulka 2
Doporučení pro cílenou terapii feohyfyomykóz a chromoblastomykóz [6]

Druh infekce	Cíl	Intervence	SD	KD	Poznámky
Lokalizovaná kožní infekce nebo podkožní noduly	Vyléčení	Chirurgie	A	II	Dramatický průběh u nekontrolovaných případů a možnost vícečetného opakování zákroků
Vícečetné podkožní noduly	Vyléčení	Kryoterapie, laserová terapie, terapie horkem nebo KI	B	III	Oblasti s nedostupností ATM nebo ATM terapie selhala nebo výskyt kontraindikace
	Prevence diseminace	Itrakonazol (400 mg) nebo vorikonazol (400 mg)	B	III	Rozhodnutím lékaře (zvláště imunokompromitovaní pacienti)
	Vyléčení	Itrakonazol (400 mg) nebo vorikonazol (400 mg)	A	III	Kauzální studie; délka terapie 3-12 měsíců
	Vyléčení	Itrakonazol (200 mg), posakonazol (800 mg), amfotericin B (1 mg/kg), lipozomální amfotericin B (3 mg/kg), caspofungin (70/50 mg), terbinafin (250-500 mg) nebo kombinovaná terapie s itraconazolem + terbinafinem nebo itraconazolem + amfotericin B	C	III	Několik kauzálních studií a nedostatek dat. Některé případy zahrnují chirurgický zákrok, pokud je to nutné
Mycetom	Vyléčení nebo redukce infekce	Itrakonazol (400 mg) nejméně 3 měsíce (někdy roky) + chirurgický zákrok	A	II	Dramatický průběh u nekontrolovaných případů a možnost vícečetného opakování zákroků
	Viz výše	Vorikonazol (400 mg), posakonazol (800 mg) nebo terbinafin (250 mg) + chirurgický zákrok	A	III	Dramatický průběh u několika nekontrolovaných případů
Refrakterní mycetom	Viz výše	Amfotericin B (1 mg/kg)	D	III	Nepraktické vzhledem k délce terapie
	Redukce lézí	Kombinace ATM (triazoly + terbinafin nebo 5-fluorocytosin)	B	III	Kauzální studie, pokud možno nutný chirurgický zákrok
Chromoblastomykóza	Vyléčení nebo redukce infekce	Itrakonazol (400 mg) měsíce až roky + chirurgický zákrok	A	II	Dramatický průběh u nekontrolovaných případů a možnost vícečetného opakování zákroků
	Viz výše	Terbinafin (250 mg) nebo posakonazol (800 mg) + chirurgický zákrok	B	III	Kauzální studie
Refrakterní chromoblastomykóza	Viz výše	Kryoterapie, laserová terapie, terapie horkem nebo KI	B	III	Kauzální studie
	Redukce lézí	Kombinovaná terapie (itraconazol + terbinafin)	B	III	Kauzální studie, pokud možno nutný chirurgický zákrok
Keratitida	Vyléčení	Natamycin samostatně nebo + další lokální ATM	A	II	Opakující se infekce
	Vyléčení	Lokální azoly samostatně	B	III	Kauzální studie
Refrakterní keratitida	Vyléčení	Triazoly orálně (konvenční dávkování) + chirurgický zákrok	B	III	Kauzální studie
	Vyléčení	Injekce vorikonazolu intrastromálně	C	III	Nedostatečná data
Plicní infekce	Vyléčení nebo kontrola infekce	Systémové liposomální amfotericin B (3 mg/kg), itraconazol (400 mg), vorikonazol (400 mg) nebo posakonazol (800 mg)	B	III	Kauzální studie na imunosuprimovaných pacientech nebo pacientech se základním plicním onemocněním (v případě posakonazolu několik případů)
	Vyléčení	Chirurgický zákrok	B	III	Kauzální studie
Samostatný plicní nodul u imunokompentního pacienta	Vyléčení	Kompletní excize (pokud je to možné)	A	II	Dramatický průběh u nekontrolovaných případů
	Vyléčení bez chirurgie	Vorikonazol (400 mg) nebo posakonazol (800 mg)	C	III	Opakující se případy, živočišné modely a data z in vitro studií
Mozkový absces	Viz výše	Amfotericin B (malé dávky)	D	III	Kauzální studie, selhání a výsledky z živočišných modelů a in vitro dat
	Viz výše	Nová kombinovaná terapie (vorikonazol nebo posakonazol + echinokandin + 5-fluorocytosin)	B	III	Rozhodnutí lékaře a kauzální studie (velmi málo)
Kostní a kloubní infekce	Vyléčení	Chirurgický zákrok + itraconazol (400 mg), vorikonazol (400 mg), posakonazol (800 mg) nebo liposomální amfotericin B (3 mg/kg)	B	III	Kauzální studie
	Vyléčení	Výměna katétru + systémová antiinfúzní terapie	A	II	Dramatický průběh u nekontrolovaných případů při vyměňování katetrů
Diseminovaná infekce	Vyléčení (peritoneální dialýza)	Lipozomální amfotericin B (3 mg/kg), itraconazol (400 mg), vorikonazol (400 mg) nebo posakonazol (800 mg)	C	III	Kauzální studie
	Viz výše	Vorikonazol (400 mg) nebo posakonazol (800 mg) + terbinafin (250 mg) + kolonie stimulační faktor/leukocytová infúze	B	III	Rozhodnutí lékaře a kauzální studie (velmi málo a založené na zkušenostech s infekcemi <i>Scedosporium</i> spp.
Alergická sinusitida	Odstranění hlenu a redukce symptomů	Chirurgický zákrok + systémová kortikoterapie	A	II	Prospektivní, randomizovaná studie s placebo-kontrolní skupinou (jen 24 pacientů) a literární přehledy
	Redukce potřeby steroidů	Itrakonazol (několik dávek)	C	III	Kauzální studie
Refrakterní alergická sinusitida	Redukce symptomů	Itrakonazol (několik dávek) nebo vorikonazol (400 mg)	B	III	Kauzální studie
	Vyléčení	Chirurgický zákrok	A	II	Dramatický průběh u nekontrolovaných pacientů
Sinus „Fungus ball“ invasivní sinusitida	Vyléčení	Lipozomální amfotericin B (3 mg/kg), za 2 týdny vorikonazol (400 mg) po dobu 3 měsíců	C	III	Nedostatek důkazů
	Redukce symptomů	Kortikosteroidy	B	III	Kauzální studie
ABPM	Redukce symptomů	Itrakonazol (několik dávek)	D	III	Rozhodnutí lékaře

SD – síla důkazu, KD – kvalita důkazu, ABPM – alergická bronchopulmonární mykóza, ATM – antimykotika, KI – iodid draselny

a 5-fluorocytosinu nebo terbinafinu může být účinnou zbraní v léčbě refrakterních případů.

Orální forma vorikonazolu byla testována v několika případech léčby refrakterních forem těchto onemocnění. Přestože bylo dosaženo dobrých klinických výsledků, nežádoucí účinky, jako jsou poruchy zraku a fotosenzitivní kožní reakce, nebyly neobvyklé [26]. Isavukonazol, nový širokospektrý triazol, určený pro léčbu invazivní aspergilózy a mukormykózy, byl recentně v rámci mezinárodní multicentrické klinické studie testován na účinnost a snášenlivost u malého počtu pacientů s feohyfyomykózou a chromoblastomykózou [27]. Bylo zjištěno, že podobně jako jiné triazoly je i isavukonazol velmi účinný *in vitro* a *in vivo* proti tmavě pigmentovaným houbám a v budoucnu může představovat další alternativu v léčbě pacientů se střední či těžkou formou těchto mykotických infekcí [11,23,27].

Ostatní antifungální látky

V minulosti bylo k léčbě pacientů s chromoblastomykózou použito několik dalších antifungálních látek s různými výsledky. Byly zvoleny, když selhala konvenční léčba itraconazolem nebo terbinafinem, kombinací obou nebo jednoho z nich a chirurgického zákroku. Nejčastěji se jednalo o cholekalciferol a vitamin D2 v dávce 600 000 IU týdně. Jodid draselný používaný samostatně měl podle získaných dat minimální účinek a použití perorálního thiabendazolu se zdálo být zcela bez efektu. Léčba deoxycholátem amfotericinu B intravenózně v monoterapii nebo kombinaci s 5-fluorocytosinem nebyla od zavedení itraconazolu v 80. letech minulého století využívána. Podle některých autorů se v minulosti doporučovala terapie deoxycholátem amfotericinu B nejen intravenózně, ale také intraarteriálně nebo přímou aplikací do lézí [4]. To se často setkávalo jen s omezeným úspěchem; vzhledem k dlouhodobé léčbě vyvolával tento přístup řadu nežádoucích účinků, např. arteritidu, nekrózu a lokální bolesti. Navíc se po přerušení terapie infekce téměř vždy reaktivovala. Dalšími preparáty používanými lokálně s variabilními výsledky a závažnými vedlejšími účinky byly ketokonazol, 5-fluorouracil nebo ajoen [1]. U systémových feohyfyomykóz se prakticky žádná z lokálních kombinací neuplatňuje.

Doplňková terapie

V posledních letech bylo zaznamenáno několik ojedinělých sérií případů, kde se hodnotil účinek terapie kombinací itraconazolu nebo terbinafinu s imunostimulačními sloučeninami, jako jsou glukán [28] a lokální imidazochinolin (imiquimod) [29]. Tato doplňková léčba byla používána většinou v těžších a refrakterních případech a výsledky byly velmi variabilní. V některých případech bylo možné dosáhnout vyléčení, v jiných jen významné redukce lézí. Byla také vyvinuta experimentální vakcína DNA-HSP65, která stimuluje adaptivní imunitu, a to se slibnými výsledky nejen pro terapii, ale také pro profylaxi chromoblastomykózy. Prozatím však byl její účinek ověřen pouze na zvířecích modelech. Tento přístup byl experimentálně kombinován s itraconazolem, kdy bylo dosaženo významného klinického efektu v případě kožních lézí [30].

Prevence

Podobně jako u jiných houbových infekcí, nejsou ani v případě chromoblastomykózy a feohyfyomykózy k dispozici žádné vakcíny. Jak by se v těchto případech uplatňovala vakcína vyrobená na základě rekombinantních protilátek proti fugálnímu HSP90 [31] není známo, neboť poslední publikovaná práce je z roku 2013 a dále se o ní literatura již nezmiňuje. Prevencí, zvláště u chromoblastomykózy, ale také feohyfyomykózy, kdy je onemocnění způsobeno několika typy transkutánního traumatu, může být do jisté míry použití ochranných prostředků, jako jsou rukavice, boty a odpovídající oblečení, což snižuje riziko infekce všudypřítomnými tmavě pigmentovanými houbami. To může být klíčovým faktorem pro jedince pracující v prostředí se zvýšeným rizikem nákazy.

Závěr

Případy chromoblastomykóz jsou v některých oblastech světa, zvláště v rozvojových zemích, velmi četné. Klinická manifestace onemocnění chromoblastomykózou je typická. I když bylo na území ČR v minulosti popsáno několik autochtónních případů, vzhledem k rostoucí frekvenci cestovatelských aktivit představují riziko především importované nákazy. Etiologická agens chromoblastomykóz se do jisté míry překrývají s původci feohyfyomykóz. Posledně zmíněná onemocnění se nevyskytují příliš často, ale nezřídka končí fatálně, a proto je důležitá jejich včasná terapie. Účinným nástrojem v boji s těmito infekcemi je cílená antimykotická léčba spolu s chirurgickým zákrokem. Zvláště v poslední době máme k dispozici celou řadu nových triazolových preparátů, které mohou pomoci při léčbě i těch nejtěžších případů. Podle nedávných studií se v léčbě hlubokých feohyfyomykóz jako velmi nadějný preparát jeví posakonazol a isavukonazol. Prevence vzniku infekce by měla být zaměřena na snížení nebezpečí traumat transkutánním vpichem, nejen u imunokompromitovaných pacientů, ale také u zdravých osob, které přicházejí do kontaktu s možným zdrojem nákazy, například s importovanými dřevěnými materiály.

Literatura

1. Queiroz-Telles F, de Hoog S, Santos DWC, et al. Chromoblastomycosis. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(1):233–276.
2. Thomas E, Bertolotti A, Barreau A, et al. From phaeohyphomycosis to disseminated chromoblastomycosis: A retrospective study of infections caused by dematiaceous fungi. *Med Maladies Infect.* 2018;48(4):278–285.
3. Garnica M, Nucci M, Queiroz-Telles F. Difficult mycoses of the skin: advances in the epidemiology and management of eumycetoma, phaeohyphomycosis and chromoblastomycosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2009;22(6):559–563.
4. Queiroz-Telles F, Santos DW. Challenges in the therapy of chromoblastomycosis. *Mycopathologia.* 2013;175(5–6):477–488.
5. Queiroz-Telles F, Santos DW. Chromoblastomycosis in the clinical practice. *Curr Fungal Infect Rep.* 2012;6(4):312–319.
6. Chowdhary A, Meis JF, Guarro J, et al. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of systemic phaeohyphomycosis: diseases caused by black fungi. *Clin Microbiol Infect: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2014; 20 Suppl 3:47–75.
7. Revankar SG, Baddley JW, Chen SC, et al. A Mycoses Study Group International Prospective Study of Phaeohyphomycosis: An Analysis

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

- of 99 Proven/Probable Cases. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(4): ofx200.
8. Goralska K, Blaszkowska J, Dzikowiec M. Neuroinfections caused by fungi. *Infection.* 2018;46(4):443–459.
 9. Dobias R, Filip M, Vragova K, et al. Successful surgical excision of cerebral abscess caused by *Fonsecaea monophora* in an immunocompetent patient and review of literature. *Folia Microbiol.* 2019;64(3):383–388.
 10. Daboit TC, Massotti Magagnin C, Heidrich D, et al. In vitro susceptibility of chromoblastomycosis agents to five antifungal drugs and to the combination of terbinafine and amphotericin B. *Mycoses.* 2014; 57(2):116–120.
 11. Najafzadeh MJ, Badali H, Illnait-Zaragozi MT, De Hoog GS, Meis JF. In vitro activities of eight antifungal drugs against 55 clinical isolates of *Fonsecaea* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(4): 1636–1638.
 12. Yu J, Li R, Zhang M, Liu L, Wan Z. In vitro interaction of terbinafine with itraconazole and amphotericin B against fungi causing chromoblastomycosis in China. *Med Mycol.* 2008;46(7):745–747.
 13. Deng S, de Hoog G, Badali H, et al. In vitro antifungal susceptibility of *Cladophialophora carrionii*, an agent of human chromoblastomycosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(4):1974–1977.
 14. Sato T. Practical Management of Deep Cutaneous Fungal Infections. *Med Mycol J.* 2017;58(2):E71–e77.
 15. Grant SM, Clissold SP. Itraconazole. *Drugs* 1989;37(3):310–344.
 16. Kumarasinghe S, Kumarasinghe M. Itraconazole pulse therapy in chromoblastomycosis. *Eur J Dermatol.* 2000;10(3):220–222.
 17. Bonifaz A, Saul A, Paredes Solis V, Araiza J, Fierro Arias L. Treatment of chromoblastomycosis with terbinafine: experience with four cases. *J Dermatol Treat.* 2005;16(1):47–51.
 18. Silva Rocha WP, Cardoso FJ, Colalto W, Melo ASA, Chaves GM. Clinical improvement of chromoblastomycosis refractory to itraconazole successfully treated with high dose of terbinafine. *J Dermatol.* 2013;40(9):775–776.
 19. Goel RS, Gupta S, Dua V, Kumar R. Cerebral Phaeoophomycosis with Onychomycosis: Case Report and Review of Literature. *Asian J Neurosurg.* 2019;14(2):575–577.
 20. Khaliq MF, Ihle RE, Schirtzinger CP. *Cladophialophora bantiana* Cerebral Phaeoophomycosis Complicated by Pulmonary Nocardiosis: A Tale of Two Infections. *Case reports in infectious diseases.* 2019; 2019:4352040.
 21. Lyskova P, Kubanek M, Hubka V, et al. Successful Posaconazole Therapy of Disseminated Alternariosis due to *Alternaria infectoria* in a Heart Transplant Recipient. *Mycopathologia.* 2017;182(3–4): 297–303.
 22. Gupta A, Taborda P, Sanzovo A. Alternate week and combination itraconazole and terbinafine therapy for chromoblastomycosis caused by *Fonsecaea pedrosoi* in Brazil. *Med Mycol.* 2002;40(5):529–534.
 23. Dalla Gasperina D, Lombardi D, Rovelli C, et al. Successful treatment with isavuconazole of subcutaneous phaeoophomycosis in a kidney transplant recipient. *Transplant Infect Dis: an official journal of the Transplantation Society.* 2019:e13197.
 24. Kraft WK, Chang PS, van Iersel ML, et al. Posaconazole tablet pharmacokinetics: lack of effect of concomitant medications altering gastric pH and gastric motility in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(7):4020–4025.
 25. Jung DS, Tverdek FP, Kontoyiannis DP. Switching from posaconazole suspension to tablets increases serum drug levels in leukemia patients without clinically relevant hepatotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(11):6993–6995.
 26. Criado PR, Careta MF, Valente NY, et al. Extensive long-standing chromomycosis due to *Fonsecaea pedrosoi*: three cases with relevant improvement under voriconazole therapy. *J Dermatol Treat.* 2011; 22(3):167–174.
 27. Cornely OA, Mullane KM, Ostrosky-Zeichner L, et al. Isavuconazole for treatment of rare invasive fungal diseases. *Mycoses.* 2018;61(8): 518–533.
 28. Azevedo Cde M, Marques SG, Resende MA, et al. The use of glucan as immunostimulant in the treatment of a severe case of chromoblastomycosis. *Mycoses.* 2008;51(4):341–344.
 29. de Sousa Mda G, Belda W, Jr., Spina R, et al. Topical application of imiquimod as a treatment for chromoblastomycosis. *Clin Infect Dis.* 2014;58(12):1734–1737.
 30. Siqueira IM, Ribeiro AM, de Medeiros Nóbrega YK, et al. DNA-hsp65 Vaccine as Therapeutic Strategy to Treat Experimental Chromoblastomycosis Caused by *Fonsecaea pedrosoi*. *Mycopathologia.* 2013; 175(5–6):463–475.
 31. Matthews RC, Rigg G, Hodgetts S, et al. Preclinical assessment of the efficacy of mycograb, a human recombinant antibody against fungal HSP90. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(7):2208–2216.
 32. Gonzalez GM. In vitro activities of isavuconazole against opportunistic filamentous and dimorphic fungi. *Med Mycol.* 2009;47(1):71–76.
 33. Badali H, Khodavaisy S, Fakhim H, et al. In Vitro Susceptibility Profiles of Eight Antifungal Drugs against Clinical and Environmental Strains of *Phaeoacremonium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(12):7818–7822.
 34. Badali H, Bonifaz A, Barron-Tapia T, et al. *Rhinocladiella aquaspersa*, proven agent of verrucous skin infection and a novel type of chromoblastomycosis. *Med Mycol.* 2010;48(5):696–703.

Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy – patogeneze a laboratorní diagnostika

R. DOBIÁŠ¹, V. HAVLÍČEK²

¹Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, oddělení bakteriologie a mykologie;

²Laboratoř charakterizace molekulárních struktur, Mikrobiologický ústav, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

SOUHRN

Dobiáš R., Havlíček V.: **Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy – patogeneze a laboratorní diagnostika**

Chromoblastomykózy a feohyfyomykózy jsou méně časté mykotické infekce, které jsou vyvolávány tmavě pigmentovanými houbami. Faktory virulence hrají významnou úlohu v patogenezi těchto onemocnění. Muriformní buňky jsou jedním z těchto faktorů a jsou také nejdůležitějším prvkem pro diferenciální diagnostiku chromoblastomykózy a feohyfyomykózy z klinického materiálu pomocí různých technik barvení mikroskopických preparátů. Přesná identifikace původců chromoblastomykóz a feohyfyomykóz je velmi důležitá z hlediska správného a včasného přístupu k antimykotické terapii, a proto je vhodné využít pro konfirmaci druhové identifikace etiologického agens sekvenaci DNA z narostlé kultury. Včasná diagnostika může být klíčová, zejména v případě invazivních forem těchto infekcí. Některé imunochemické metody mohou být při navádění diagnostika správným směrem nápomocné a detekce DNA metodou polymerázové řetězové reakce přímo z klinického materiálu se zdá být užitečná pro identifikaci původců těchto závažných a život ohrožujících infekcí.

Klíčová slova: chromoblastomykóza, feohyfyomykóza, patogeneze, muriformní buňky, laboratorní diagnostika

SUMMARY

Dobiáš R., Havlíček V.: **Chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis – pathogenesis and laboratory diagnosis**

Chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis are less common fungal infections caused by dark-pigmented fungi. Virulence factors play an important role in the pathogenesis of these diseases. One of these factors, muriform cells, are the most important element for differential diagnosis of chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis using clinical samples and various staining techniques. Accurate identification of pathogens causing chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis is very important for correct and early antifungal therapy. Therefore, species identification of the etiological agent should be confirmed by sequencing of DNA from the culture. Early diagnosis may be crucial, especially in case of invasive forms of these infections. The diagnosis may be guided by some immunohistochemistry methods and DNA detection using polymerase chain reaction directly from clinical samples seems to be useful for identification of pathogens causing these severe and life-threatening infections.

Keywords: chromoblastomycosis, phaeohyphomycosis, pathogenesis, muriform cells, laboratory diagnosis

Klin mikrobiol inf lék 2020;26(2):69–75

Adresa: Mgr. Radim Dobiáš, Ph. D., Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava; e-mail: radim.dobias@zuova.cz

Došlo do redakce: 25. 3. 2020

Přijato k tisku: 16. 7. 2020

Úvod

Hluboké mykózy jsou heterogenní skupinou onemocnění, které se leckdy vyskytují teprve měsíce nebo roky po počáteční infekci. Patří mezi ně také chromoblastomykózy a feohyfyomykózy. Ty postihují z velké části kožní a podkožní tkáň, ale ve většině případů také sousední struktury, jako jsou lymfatické žlázy, někdy i chrupavky, klouby a kosti [1,2]. Většina kutánních a subkutánních hlubokých mykóz se vyskytuje v tropických a subtropických oblastech a obvykle postihuje osoby zapojené do různých venkovních ak-

tivit, jako je zemědělství, lov zvěře a hlavně těžba dřeva. Tato onemocnění imitují několik infekčních, ale i neinfekčních stavů a jejich problematika je podceňována kvůli nedostatečné diagnostice v oblastech, kde se mohou vyskytovat [2]. Původci chromoblastomykóz se do jisté míry překrývají s původci feohyfyomykóz, obecně lze říci, že infekce způsobené tmavě pigmentovanými houbami jsou proměnlivé a za určitých podmínek jsou to závažná chronická, ale také invazivní onemocnění, která mohou mít fatální následky [3–9].

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Patogeneze a obranné mechanismy hostitele

Již dřívější studie ukázaly, že v důsledku zvýšené virulence etiologických agens je v případě chromoblastomykózy narušena „clearance“ houbového patogenu v hostitelském organismu [10,11]. Na tomto onemocnění se pravděpodobně podílí několik potenciálních faktorů virulence, včetně mechanismů modifikace buněčného povrchu, hydrofobicity, remodelace buněčné stěny hub, sekrece proteolytických a hydrolytických enzymů, adhezních molekul, inkorporace aromatických uhlovodíků, extracelulární produkce sideroforů a zejména přítomnost melaninu. Většina takových faktorů, pozorovaných u chromoblastomykózy, je do značné míry podobná infekcím, způsobeným jinými patogenními houbami [11,12]. Pro patogenitu původců chromoblastomykózy jsou velmi významné melanin, muriformní buňky, buněčná adheze a hydrofobicita. Imunitní mechanismy hostitele proti chromoblastomykóze, včetně buněčných a humorálních reakcí, jsou velmi málo prostudovány. Buněčná imunitní odpověď v interakci hostitel-houba je velmi vý-

znamná, což naznačuje, že hlavním faktorem zodpovědným za vývoj chromoblastomykózy je perzistence agens *in situ* [12,13].

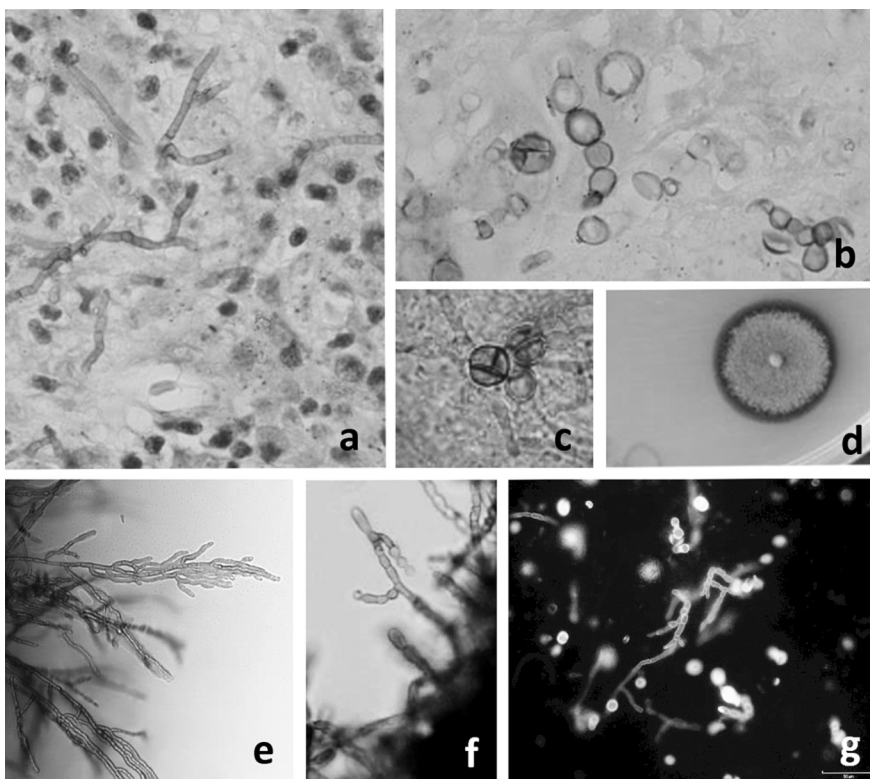
Buněčná morfologie a stavba

Melanizované houby jsou polymorfní organismy. Díky své plasticitě a přizpůsobivosti v organických i anorganických prostředích jsou morfologicky velmi rozmanité. Pakliže jsou to původci feohyfyomykózy, mohou se v klinických vzorcích vyskytovat v řadě morfologických tvarů, samostatně nebo v kombinaci: septované (toruloidní) hyfy, pseudohyfy, kvasinkové a vezikulární útvary. Pokud jde o mycetom, tak se ve tkáni melanizované houby obvykle vyskytují jako tmavě pigmentovaná zrna, složená z krátkých rozrušených vláken, spojených s vezikulárními elementy [14]. Hyfy a konidie se vyskytují v přírodě hojně a snadno se kultivují na základních mykologických médiích, jako je Sabouraudův agar [7,9]. Některé formy jsou velmi odolné k extrémním podmínkám prostředí, například velmi vysokým nebo nízkým teplotám, extrémnímu pH a půdě s nedostatkem živin. Přežívají na skalách i v rostlinách [13].

Po transkutánní implantaci vykazují propagační částice původců chromoblastomykózy jedinečné vlastnosti, buněčnou a morfologickou plasticitu. Během infekce dochází k diferenciaci buněk, meristematickému růstu, isodiametrickému bobtnání a tvorbě sept do kříže. Výsledkem je muriformita buňky, které jsou pak označovány jako „medlar bodies“ (tvar plodu mišpule) nebo, alternativně, „copper pennies“ (měďáky) a „sklerotické nebo meristematické buňky“ (obrázek c) [13]. Tyto invazivní muriformní buňky se mohou vyskytovat samostatně nebo ve skupinách. Mají kulatou až mnohostěnnou podobu s tmavě pigmentovanou silnou stěnou s příčnými a podélně příčnými stěnami. Muriformní buňka je považována za mechanismus umožňující evoluční adaptaci pro přežití uvnitř mikroprostředí hostitele [15]. Je přímo spojena s intenzivní granulomatózní reakcí hostitele, jakož i odpovědná za spuštění imunitních mechanismů, signalizujících nástup chronicity onemocnění. Čas přeměny z konidií na muriformní buňky byly ve studiích *in vitro* odhadovány na 6 dní [16].

Muriformní uspořádání buněk ve tkáni hostitele je v optimálním poměru povrchu a objemu a podporuje význam rozložení melaninu v buněčné stěně. Diferenciace z mycelia na muriformní buňky vyžaduje nízkou koncentraci iontů, např. *Fonsecaea pedro-*

Obrázek a–g
Mykologická diagnostika chromoblastomykózy a feohyfyomykózy



Vysvětlivky: **a)** tmavě pigmentované hyfy ve tkáni mozku – cerebrální feohyfyomykóza (barvení Giemsa-Romanowski, zvětšeno 400×), **b)** detail fragmentů mycelia v mozkové tkáni – cerebrální feohyfyomykóza (barvení Giemsa-Romanowski, zvětšeno 400×), **c)** detail muriformních buněk („medlar bodies“) u chromoblastomykózy, **d)** kolonie *Fonsecaea monophora* po 7 dnech na Czapek Yeast Extract agaru při teplotě 28 °C, **e)** *Fonsecaea monophora* – větvené hyfy v mikrokuře na Sabouraudově agaru (zvětšeno 200×), **f)** jednobuněčné elipsoidní až fusiformní konidie vznikající v řetězcích akropetálně (barvení laktófenolovou bavlnovou modří, zvětšeno 400×), **g)** větvené, septované hyfy a konidie *Alternaria infectoria* barvené blankoforem a zobrazené fluorescenční mikroskopií – subkutánní feohyfyomykóza

soi (0,1 mM; pH 2,5) Ca²⁺, což naznačuje, že zmíněný faktor může být důležitý v procesu přechodu do chromoblastomykózy [13,16]. Z muriformních buněk se mohou snadno diferencovat hyfy a konidie, nebo se mohou tmavě pigmentované mikromycety udržovat v podobě těchto buněk v nepříznivých podmínkách, což vyplývá z experimentů *in vitro* na buňkách odebraných z tkáňových lézí [17]. Bylo prokázáno, že přežití rezistentních forem a následně vznik klinického onemocnění způsobené *F. pedrosoi* může být spojeno s přítomností muriformní buňky, tedy invazivní jednotky uvnitř hostitelské tkáně [18]. Muriformní buňky zůstávají významným diferenciálním diagnostickým nástrojem pro rozlišení mezi chromoblastomykózou a sémanticky úzce související feohyfomykózou, kde zmíněné buňky nebývají přítomny. Jsou vysoce odolné vůči obranným mechanismům imunitního systému, a lepší znalost tohoto diferenciálního procesu proto může umožnit návrh účinnějších terapeutických přístupů v případě chromoblastomykózy [13]. Mikrobiální adherence a hydrofobicita jsou dvě z nejdůležitějších klíčových vlastností hub v jejich patogenezi [16]. U chromoblastomykózy mohou infekční formy ulpět na epitelu uvnitř hostitele, což pak vede k diferenciaci muriformních buněk, které odolávají imunitnímu systému hostitele a umožňují vývoj chronického granulomatózního zánětu.

Faktory virulence

Termotolerance je jedním z důležitých faktorů virulence mezi zástupci původců chromoblastomykóz a feohyfomykóz. Patogenní druhy rodu *Fonsecaea* mají optimální růstovou teplotu 33 °C a maximální růstovou teplotu 37 °C [9,16,19]. Tyto teploty jsou mírně vyšší než teploty přísně ekologických druhů. To je zcela zásadní pro invazi do tkáně teplokrevného hostitele, ačkoliv vzhledem k hraničnímu teplotnímu růstovému maximu nemusí mít rozvoj infekce ve tkáni tak rychlou progresi a léze se zde vyvíjejí poměrně dlouhou dobu [9]. Oproti tomu *Cladophialophora bantiana*, která infikuje centrální nervový systém a dýchací systém lidí, může růst při 40 °C, a pakliže je hostitel navíc imunodeficitní, bývá infekce fatální [7]. Zdá se, že podobné rozdíly v optimálních a maximálních růstových teplotách vedou k predikci studenokrevných nebo teplokrevných hostitelů u druhů rodu *Exophiala* [20]. Poměrně rigidní buněčná stěna houby kontrastuje s dynamickou strukturou molekul nezbytnou pro buněčnou diferenciaci, růst a přizpůsobení se hostiteli. K virulenci původců chromoblastomykózy a feohyfomykózy mohou přispívat různé složky membrány a buněčné stěny, včetně melaninu, chitin syntázy (CHS), souboru hydrolytických enzymů (fosfatázy, fosfolipázy, lipázy, esterázy, ekto-ATPázy, peptidázy, DNázy, ureázy a gelatinázy), lipidů, galaktomananů a cerebrosidů. Diferenciace hyf a konidií na muriformní buňky může přispívat k virulenci původce, pokud vezmeme v úvahu zvýšení tloušťky stěny po procesu přestavby v muriformní buňky, které pak velmi spolehlivě odolávají obranným mechanismům hostitelského imunitního systému.

Lipidy nebo frakce buněčných stěn bez lipidů extrahované z různých původců chromoblastomykóz vyvolávají u myši významné granulomatózní reakce [13]. Při testování *in vitro* se ukázalo, že živé **muriformní buňky** mají skuteč-

ně vysokou kapacitu v indukcii obřích Langerhansových buněk v kůži [19]. Labilní galaktofuranosylové zbytky jsou v kyselém prostředí odpovědné za imunogenní vlastnosti **galaktomananů**, což bylo prokázáno na izolátech tří druhů rodu *Fonsecaea* [13]. Mezi hlavní molekuly, které stimulují imunitní systém hostitele, patří **cerebrosidy** a hlavní neutrální **glykosfingolipidy** houbových buněk složené z monosacharidů navázaných na N-acyl sfingosinceramid, vyvolávající produkci protilátek, což bylo prokázáno na myším modelu s druhem *F. pedrosoi*, kde byl inhibován růst tohoto agens a zvýšila se likvidační schopnost makrofágů [21]. Velmi významnou složkou buněčné stěny těchto hub je **chitin**, který je tvořen vázaným 1,3-β-D-glukanem a polymery N-acetylglukosaminu, které se zde vyskytují v různých konformacích. Syntéza chitinu závisí na enzymatické aktivitě chitin syntáz I, II a III, které se podílejí na cytokinezi, syntéze sept a tvorbě jizev. Tato aktivita, která je kódována ve strukturních genech CHS, je přímo spjata s možností růstu při teplotě 37 °C a expanzí muriformních buněk, jako je tomu například v případě druhu *Exophiala dermatitidis*. Také bylo prokázáno, že muriformní buňky *F. pedrosoi* mají chitin podobnou složku, která zprostředkovává vývoj Th17 inhibiči dektinu-1 a narušuje tak imunitní odpověď hostitele, což vede k chronicitě chromoblastomykózy [13,22].

Melanin

Melanin je v přírodě velmi rozšířený. Považuje se za imunologicky aktivní sloučeninu, fungující jako důležitý faktor virulence různých patogenních hub [23]. Existují tři možné mechanismy, které jsou spojeny s vlivem melaninu na zvýšenou odolnost hub proti imunitním buňkám hostitele: ochrana proti proteolytickým enzymům, ochrana před kyslíkovými radikály nebo deriváty dusíku a snížení schopnosti fagocytózy [24]. Pomocí transmisní elektronové mikroskopie bylo zjištěno, že melanin je převážně uložen v koncentrických vrstvách v intracelulárních váčcích, známých jako melanozomy, podobně jako u savčích buněk [24]. Na modelovém případě tmavě pigmentované mikromycety *F. pedrosoi* bylo prokázáno, že se tzv. pyomelanin produkuje nejen v buněčné stěně, ale také extracelulárně a může se akumulovat. Melanin bývá nejvíce detegován uvnitř fagocytárních vakuol spolu s pohlčenými houbami a během infekce jeho rozložení v buněčné stěně narušuje produkci oxidu dusnatého a inhibuje fagocytózu, jak bylo prokázáno pomocí *F. pedrosoi* [13].

Extracelulární enzymy a metabolismy

Proteolytické enzymy, jako jsou peptidázy, mají při interakci patogen-hostitel více funkcí a umožňují obejít obranu hostitele s následným rozkladem nebo destrukcí povrchu hostitelské buňky. Proteolytické enzymy mohou škodit různým složkám obranných mechanismů hostitele, což vede k úniku před imunitním systémem nebo k antimikrobiální rezistenci a bylo prokázáno, že muriformní buňky mají ve srovnání s konidiemi a myceliem vysokou fosfatázovou aktivitu spojenou s patogenitou [25]. Původci chromoblastomykóz a feohyfomykóz produkují a vylučují řadu hydrolytických enzymů. Stěny muriformních buněk *F. pedrosoi*

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Tabulka 1
Doporučení mikrobiologických postupů pro detekci infekcí způsobených tmavě pigmentovanými houbami [29,36]

Onemocnění/populace	Cíl	Diagnostický postup	SD	KD	Komentáře
Všechny případy hluboké infekce	Definitivní diagnóza a druhová identifikace – nejlepší pro zajištění terapie volby	Přímá mikroskopie KOH, fluorescenční histopatologie a speciální barvení H&E, barvení Fontana-Masson, PAS (invaze) a kultivace	A	III	Vizualizace melanizovaných fungálních struktur Definitivní detekce melaninu ve tkáni/vzorcích aspirátu barvením Fontana-Masson Konvenční izolační média – identifikace druhu (pro některé kmeny BHI)
Mozkový absces a další lokalizované infekce	Definitivní diagnóza a druhová identifikace	Viz výše s tím, že vzorek je odebrán z místa infekce	A	III	<i>Cladophialophora bantiana</i> a <i>Rhinoctadiella mackenziei</i> (nejčastější druhy infekcí CNS)
Diseminované infekce	Definitivní diagnóza a druhová identifikace	Viz výše, navíc provést kultivaci z krve a pokud možno i dalších vzorků	A	III	
Všechny případy	Znalost lokální druhové diverzity	Periodický epidemiologický průzkum	A	III	
Případy obtížně identifikovatelných a příbuzných/kryptických druhů	Definitivní druhová identifikace	Molekulární identifikace (cílené sekvenování DNA)	B	III	Může být esenciální pro identifikaci vzácných druhů
Všechny případy hluboké infekce	Detekovat hodnoty MIC <i>in vitro</i> – nejlepší pro zajištění terapie volby	Determinace MIC	A	III	Použit referenční metodiku
Všechny případy	Detekce lokálních rezistencí <i>in vitro</i>	Periodické epidemiologické průzkumy MIC	A	III	Použit referenční metodiku
Všechny případy hluboké infekce	Detekce infekce	Kvantitativní detekce 1,3-β-D-glukanu	C	III	Panfungální detekce, nižší hladiny v séru
Všechny případy hluboké infekce	Detekce infekce	Kvantitativní detekce galaktomananu	D	III	Pouze v případech zkřížených reakcí, například u infekcí způsobených druhy rodu <i>Chaetomium</i>
Infekce druhů <i>Fonsecaea pedrosoi</i> a <i>Cladophialophora carrionii</i>	Detekce infekce	In-house ELISA, průkaz protilátek	C	III	Není validováno
Všechny případy	Detekce infekce ve tkáni	Metody PCR	C	III	Nedostatek dat
Všechny případy	Detekce infekce v krvi, séru nebo jiných primárně sterilních tekutinách	Metody PCR	C	III	Chybí data

Definice SD: stupně doporučení A – silně podporováno doporučeními společností ESCMID a ECMM, B – středně podpořeno doporučeními ESCMID a ECMM, C – okrajově podporováno doporučeními ESCMID a ECMM, D – není doporučeno ESCMID a ECMM

Definice KD: kvalita důkazů stupeň I – důkaz z alespoň jedné správně navržené randomizované kontrolované studie; II – důkaz z alespoň jednoho dobře navrženého klinického hodnocení, bez randomizace, z analytických studií kohort nebo kontrolovaných případových studií (nejlépe z více než jednoho centra), z více časových linií, nebo z dramatických výsledků nekontrolovaných experimentů; III – důkazy respektovaných institucí, založené na klinických zkušenostech, popisných případových studiích nebo zprávách odborných komisí

BHI – Brain Heart Infusion, H&E – Hematoxylin a eosin, KD – kvalita důkazu, SD – síla důkazu, PAS – histologické barvení „Periodic Acid Schiff“, MIC – minimální inhibiční koncentrace, ESCMID – „European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases“, ECMM – „European Confederation of Medical Mycology“

vykazují vyšší fosfatázovou aktivitu než konidie nebo hyfy a tato fosfatázová aktivita zvyšuje adhezi hostitelských buněk nejen u etiologického agens *F. pedrosoi*, ale také v případě *Rhinochadiella aquaspersa* [26]. Na povrchu *F. pedrosoi* byly nalezeny ekto-ATPázy, které mohou pomáhat při přežití hub v nepřírodném prostředí, jako je lidské tělo. Peptidázy, sekretované *F. pedrosoi* jsou schopny štěpit proteiny lidské plazmy, jako jsou imunoglobuliny, albumin a fibronektin [27]. Tyto nálezy byly nedávno potvrzeny také u druhu *Phialophora verrucosa* [16]. Zcela jistě tak dochází v průběhu invaze houbového agens do hostitelského makroorganismu k celé řadě jiných interakcí, jejichž další studium může velmi dobře sloužit jak pro časnou diagnostiku, tak pro nové možnosti terapie těchto infekcí [13].

Laboratorní diagnostika

Mykologická diagnostika

Diagnostika **chromoblastomykóz** vyžaduje přímé laboratorní potvrzení mykologickým anebo histopatologickým vyšetřením. Pro stanovení diagnózy tohoto onemocnění je nutný průkaz přítomnosti muriformních buněk v klinických vzorcích. Pigmentované houbové elementy jsou nacházeny na povrchu lézí a vypadají jako malé černé tečky (podobné kajenskému pepři). Tyto útvary, pozorované pouhým okem, představují malé hematické krusty, buněčné zbytky a fungální struktury, které jsou výsledkem eliminace transepitelií. Při provádění mikroskopie jsou kožní oděrky, obsahující šupiny, buněčné zbytky a tkáňové fragmenty částečně eliminovány pomocí 10 až 40% roztoku hydroxidu draselného (KOH). Jednotlivě nebo ve shlucích jsou muriformní buňky pozorovány jako kulaté až polyhedrální (kaštanovité) buňky o průměru 5 až 12 μm . Obvykle jsou tmavě pigmentované, tlusté a křížené příčným i podélným septem připomínající hnědou cihlovou zeď (obrázek c) [13]. Pokud se vyskytují ve vzorku houbové buňky sporadicky, může být diagnosticky efektivně využita metoda barvení pomocí kalkofluoru nebo blankoforu, kde jsou následně buňky lépe nacházeny při pozorování klinického materiálu ve fluorescenční mikroskopii (obrázek g) [8].

Blízko povrchu mohou z muriformních buněk klíčit vlákna (obrázek c). Citlivost přímého vyšetření pomocí mikroskopie vzorků lézí se pohybuje od 90 do 100 %. Tato metoda je rychlá, snadná a nenákladná a terapie může být zahájena hned po takovém průkazu muriformních buněk ve tkáni. Identifikace etiologického agens z narostlé kultury je však velmi důležitá, protože druhy rodu *Fonsecaea* mohou být na antimykotika méně citlivé než například *C. carrionii* [28,29]. Kromě toho může identifikace přispět k lepšímu lokálnímu epidemiologickým přehledům o biologické diverzitě etiologických původců nejen v České republice, ale i po celém světě. Při záchytu na rutinně používaných kultivačních médiích má většina původců chromoblastomykóz i feohyfofomykóz tendenci tvořit pomalu rostoucí, tmavě pigmentované kolonie (obrázek d). Výjimkou jsou případy infekcí vyvolaných druhu rodu *Exophiala*, které mohou mít na počátku vzhled černých kvasinek. Původci chromoblastomykóz nejsou inhibováni cykloheximidem ani chloramfenikolem, což umožňuje použití selektivních médií, aby se zabránilo rychle rostoucím kontaminacím, například bak-

teriermi nebo jinými druhy vláknitých hub a kvasinek. Inkubační doba může být poměrně dlouhá, až 6 týdnů. Z počátku jsou kolonie tmavě zelené, časem se stávají sametové a tmavší. Na rozdíl od tzv. černých kvasinek postrádají původci chromoblastomykóz počáteční kvasinkovou fázi a mikroskopické vyšetření narostlé kultury umožňuje pozorovat mycelium mnohdy ne snadno zařaditelného původce (obrázek – e, f). Podrobnější identifikace na úrovni rodu, ale hlavně druhu, vyžaduje sekvenování a nejvhodnějším způsobem je využití úseku ITS rDNA [8,9,30]. Kromě toho může být v taxonomických studiích využito specifických genů, jako jsou například geny kódující β -tubulin, faktor translace a elongace 1α a další [31]. Odpověď hostitelské tkáně není ve vzorcích u chromoblastomykóz specifická a může být podobná tkáňové reakci pozorované u většiny hlubokých mykóz. V histopatologických preparátech jsou přítomny muriformní buňky, které mohou být také uvnitř obřích Langerhansových buněk, identifikovaných rutinním barvením hematoxylin-eosinem (HE). Barvení Gomori-Grocott a Fontana-Masson jsou citlivá při detekci houbových buněk v případech, kdy se jejich fragmenty vyskytují v menší míře. Dermis typicky obsahuje hustý granulomatózní zánětlivý infiltrát, s různým stupněm fibrózy asociovaný s mononukleárními buňkami (histiocyty, lymfocyty a plazmatickými buňkami), buňkami epitelu, obřimi a polymorfonukleárními buňkami. V minulosti byly popsány dva různé druhy zánětlivých odpovědí: amorfni hnisavé granulomy a pravé tuberkuloidní granulomy [32]. Hnisavé granulomy vykazovaly pseudoepiteliární hyperplázii, mikroabscesy s velkým počtem houbových struktur, vyšší počet dermálních kapilárních cév a fibrózu. Skutečné tuberkuloidní granulomy vykazovaly atrofii epidermis nebo lehké akantózy, dobře tvarovaná granulomata s Langerhansovými obřimi buňkami, abscesy a mikroabscesy [32].

Původci **feohyfofomykóz** se liší v závislosti na jejich formě. Druhy, které se nejčastěji vyskytují v případech alergické sinusitidy a keratitidy, patří převážně do rodu *Bipolaris* a *Curvularia*, zatímco onychomykózy jsou způsobovány hlavně druhy rodu *Alternaria*. Kutánní feohyfofomykózy se obvykle projevují jako zánětlivá cysta, ale v literatuře se objevují i případy podkožních abscesů a verukózních lézí. Pacienti jsou vystaveni riziku šíření infekce, zejména nemocní s oslabeným imunitním systémem. Rozlišení chromoblastomykózy a kožní feohyfofomykózy může být pouze na základě histopatologických nálezů velmi obtížné. Některé tmavě pigmentované houby se vyvíjejí ve tkáních jako vlákna volného mycelia nepravidelné tloušťky, jako pseudovlákna nebo kulaté buňky kvasinkovitého tvaru, které je obtížné odlišit od muriformních buněk (obrázek b, c) [14]. Histopatologickým vyšetřením tkáně bývá odhalena nekrotizující a granulomatózní zánětlivá reakce. Barvením Fontana-Masson a Gomori-Grocott se na řezech tkáně mohou v místě zánětlivé reakce i v obrovských Langerhansových buňkách zvýraznit pigmentované fragmenty houby. Kousky tkáně nebo řezy lze také obarvit barvením Giemsa-Romanowski, kde jsou velmi dobře vidět detailnější struktury mycelia (obrázek a, b). Mezi nejčastěji se vyskytující dokumentované původce kutánních a subkutánních feohyfofomykóz patří zástupci rodů *Exophiala* a *Phialophora* [28,33]. Invazivní feohyfofomykóza se vyskytuje méně často, ale bývá

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

spojována se špatnou prognózou pacientů, mortalita těchto případů je až 70 % [34]. Tyto velmi těžké invazivní infekce se objevují hlavně u imunokompromitovaných pacientů. Nejčastějšími etiologickými agens těchto infekcí jsou zástupci rodů *Bipolaris*, *Exophiala* a nedávno do této skupiny hub přiřazená *Lomentospora prolificans*. Poslední dobou bývají zaznamenávány hluboké invazivní feohyfyomykózy také u imunokompetentních pacientů, i když se jedná o vzácná onemocnění. V těchto případech se nejčastěji setkáváme se zástupci rodů *Curvularia*, *Wangiella*, *Bipolaris* a *Cladophialophora* [14] a také *Fonsecaea*, hlavně *F. monophora* [9]. Nejčastější a nejtěžší lokalizací těchto infekcí je centrální nervový systém, klinickými projevy bývají mozkové abscesy nebo meningitida.

Imunodiagnostika a PCR

Podobně jako u jiných hlubokých mykóz, sérologické ani intradermální testy nebyly pro chromoblastomykózy standardizovány a nejsou pro jejich diagnostiku v rutinní praxi příliš používány. Podle údajů z některých studií však mohou být tyto testy užitečné pro séro-epidemiologické přehledy a dílčí diagnostické účely, pro něž byl vyvinut průkaz protilátek metodami EIA [13]. Autoři této techniky prokázali pozitivní reakce u 6,2 % vzorků na západním Madagaskaru, což ukazuje na existenci asymptomatických jedinců a jistou promořenost populace obyvatelstva. U těchto imunochemických technik byla pozorována variabilní senzitivita, ale specifická 90 %. Intradermální reakce připravené pomocí filtrace kultur (chromomycin) byly použity u zdravých jedinců, žijících v endemických oblastech pro epidemiologická šetření pozitivitu svědčí o přítomnosti opožděné přecitlivělosti na chromoblastomykózu [13].

Při časně diagnostice invazivních mykotických infekcí se již mnoho let využívají jako pomocné biomarkery některé složky buněčné stěny hub, které se uvolňují při růstu mikromycet v organismu hostitele. Specifický polysacharid buněčné stěny druhů rodu *Aspergillus*, galaktomanan, obvykle při invazivních infekcích, způsobených tmavě pigmentovanými houbami zkříženě nereaguje a není detekován v séru pacientů [35]. Existují však výjimky, jako je tomu v případě původců feohyfyomykóz rodu *Chaetomium*, zvláště druhu *Ch. globosum*, kdy byly zaznamenány opakované positivity v bronchoalveolární laváži (index positivity = 2,0) a séru (index positivity = 1,4) [36].

V případě galaktomananu je míra positivity v diagnostice feohyfyomykóz nevýznamná, s její větší mírou, a tím signalizací možné mykotické infekce se setkáváme v případě 1,3- β -D-gukanu. Tento biomarker je však pozitivní i u většiny častěji se vyskytujících mykotických infekcí. I přesto se 1,3- β -D-gukan může uplatňovat jako časný pomocný sérologický ukazatel v kombinaci s dalšími klinickými znaky, jako jsou mykotické léze, nebo ložiska na viditelná na zobrazovacích metodách. Dohromady mohou vést k rychlejší intervenci a získání adekvátního klinického materiálu pro mykologické nebo histopatologické vyšetření, které povede k přesné diagnóze původce infekce [9,29,37].

Metody detekce pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) se využívají v některých případech infekcí feohyfyomykóz, a to převážně při následné rychlejší identifikaci

etiologického agens z narostlé kultury [28,38]. PCR, prováděna z jednotlivých primárně sterilních lokalit (tkáň) nebo z bronchoalveolární laváže, může pomoci odhalit původce v případech, kdy je výtěžnost kultivace ze získaného materiálu nedostatečná [28].

Závěr

Faktory virulence hrají v patogenezi chromoblastomykóz a feohyfyomykóz významnou roli. Tento proces ovlivňuje celá řada extracelulárních metabolitů, produkovaných zmíněnými tmavě pigmentovanými houbami. V případě chromoblastomykóz je nejdůležitější nález tzv. muriformních buněk, které jsou zásadní pro odlišení od feohyfyomykózy. Pro laboratorní diagnostiku obou infekcí jsou velmi důležitá mikroskopická vyšetření odebraných vzorků tkáně pomocí široké škály barvicích technik. Pro správnou identifikaci je velmi důležitá prodloužená kultivace klinického materiálu a následné makro- i mikromorfologické posouzení narostlé kultury, včetně podrobné analýzy s využitím PCR a sekvenace DNA. Pro diagnostiku feohyfyomykózy stále neexistují žádné vysoce specifické metody, které by nebyly založeny na kultivaci a byly běžně dostupné. Detekce pomocí PCR může být užitečnou technikou pro průkaz tmavě pigmentovaných houbových mikroorganismů z klinického materiálu.

Literatura

1. Errol Reiss H, Shadomy H, Lyon M. Mycoses of implantation: fundamental medical mycology. Hoboken: Wiley-Blackwell. 2012.
2. Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falci DR, et al. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):e367–e377.
3. Chmel L, Svobodova Y, Ranincova A. 1st case of Chromomycosis in the Czechoslovakian SSR. *Ces Derm*. 1963;38:145–50.
4. Holý V, Hula M, Tomšiková A. The second case of chromomycosis in Czechoslovakia. *Ces Derm*. 1967;42(2):73–76.
5. Horacek J, Ulicna L. The 3rd case of chromomycosis in Czechoslovakia. (Case report). *Ces Derm*. 1969;44(2):118–120.
6. Vortel V, Kraus Z. Another case of chromomycosis on the territory of Czechoslovakia assessed by histological means. *Ces Derm*. 1975;50(5):325–326.
7. Husova L, Kocmanova I, Zampachova V, et al. *Cladophialophora bantiana* in a liver transplant recipient. *Surg Infect*. 2015;16(2):211–212.
8. Lyskova P, Kubanek M, Hubka V, et al. Successful Posaconazole Therapy of Disseminated Alternariosis due to *Alternaria infectoria* in a Heart Transplant Recipient. *Mycopathologia*. 2017;182(3–4):297–303.
9. Dobias R, Filip M, Vragova K, et al. Successful surgical excision of cerebral abscess caused by *Fonsecaea monophora* in an immunocompetent patient and review of literature. *Folia microbiol*. 2019;64(3):383–388.
10. Wüthrich M, Wang H, Li M, et al. *Fonsecaea pedrosoi* induced Th17-cell differentiation in mice is fostered by Dectin-2 and suppressed by Mincle recognition. *Eur J Immunol*. 2015;45(9):2542–2552.
11. Wevers BA, Kaptein TM, Zijlstra-Willems EM, et al. Fungal engagement of the C-type lectin mincle suppresses dectin-1-induced antifungal immunity. *Cell Host Microbe*. 2014;15(4):494–505.
12. Li XQ, Guo BL, Cai WY, et al. The role of melanin pathways in extremotolerance and virulence of *Fonsecaea* revealed by de novo assembly transcriptomics using illumina paired-end sequencing. *Stud Mycol*. 2016;83:1–18.
13. Queiroz-Telles F, de Hoog S, Santos DWC, et al. Chromoblastomycosis. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(1):233–276.
14. Thomas E, Bertolotti A, Barreau A, et al. From phaeohyphomycosis to disseminated chromoblastomycosis: A retrospective study of infections caused by dematiaceous fungi. *Med Mal Infect*. 2018;48(4):278–285.

15. Esterre P, Queiroz-Telles F. Management of chromoblastomycosis: novel perspectives. *Curr Opin Infect Dis.* 2006;19(2):148–152.
16. Seyedmousavi S, Netea MG, Mouton JW, et al. Black yeasts and their filamentous relatives: principles of pathogenesis and host defense. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):527–542.
17. da Silva MB, da Silva JP, Sirleide Pereira Yamano S, et al. Development of natural culture media for rapid induction of *Fonsecaea pedrosoi* sclerotic cells in vitro. *J Clin Microbiol.* 2008;46(11):3839–3841.
18. Machado AP, Silva MR, Fischman O. Local phagocytic responses after murine infection with different forms of *Fonsecaea pedrosoi* and sclerotic bodies originating from an inoculum of conidiogenous cells. *Mycoses.* 2011;54(3):202–211.
19. Salgado CG. Fungal x host interactions in Chromoblastomycosis: what we have learned from animal models and what is yet to be solved. *Virulence.* 2010;1(1):3–5.
20. Saraiva M, Beckmann MJ, Pflaum S, et al. *Exophiala angulospora* infection in hatchery-reared lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) broodstock. *J Fish Dis.* 2019;42(3):335–343.
21. Nimrichter L, Barreto-Bergter E, Mendonca-Filho RR, et al. A monoclonal antibody to glucosylceramide inhibits the growth of *Fonsecaea pedrosoi* and enhances the antifungal action of mouse macrophages. *Microbes Infect.* 2004;6(7):657–665.
22. Nosanchuk JD, Casadevall A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cell Microbiol.* 2003;5(4):203–223.
23. Zhang J, Wang L, Xi L, et al. Melanin in a meristematic mutant of *Fonsecaea monophora* inhibits the production of nitric oxide and Th1 cytokines of murine macrophages. *Mycopathologia.* 2013;175(5–6):515–522.
24. Franzen AJ, Cunha MM, Miranda K, et al. Ultrastructural characterization of melanosomes of the human pathogenic fungus *Fonsecaea pedrosoi*. *J Struct Biol.* 2008;162(1):75–84.
25. Palmeira VF, Kneipp LF, Alviano CS, dos Santos AL. Phospholipase and esterase production by clinical strains of *Fonsecaea pedrosoi* and their interactions with epithelial cells. *Mycopathologia.* 2010;170(1):31–37.
26. Kneipp LF, Magalhães AS, Abi-Chacra ÉA, et al. Surface phosphatase in *Rhinocladiella aquaspersa*: biochemical properties and its involvement with adhesion. *Med Mycol.* 2012;50(6):570–578.
27. Granato MQ, de Araújo Massaput P, Rozental S, et al. 1, 10-Phenanthroline inhibits the metalloproteinase secreted by *Phialophora verrucosa* and modulates its growth, morphology and differentiation. *Mycopathologia.* 2015;179(3–4):231–242.
28. Revankar SG, Baddley JW, Chen SC, et al. A Mycoses Study Group International Prospective Study of Phaeohyphomycosis: An Analysis of 99 Proven/Probable Cases. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(4): ofx200.
29. Chowdhary A, Meis JF, Guarro J, et al. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of systemic phaeohyphomycosis: diseases caused by black fungi. *Clin Microbiol Infect.: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2014;20 Suppl 3:47–75.
30. Ramprasad A, Rastogi N, Xess I, et al. Disseminated Phaeohyphomycosis by *Exophiala jeanselmei*. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians* 2019;113(4):275–277.
31. de Andrade TS, de Almeida AMZ, Basano SA, et al. Chromoblastomycosis in the Amazon region, Brazil, caused by *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea nubica*, and *Rhinocladiella similis*: Clinicopathology, susceptibility, and molecular identification. *Med Mycol.* 2020;58(2):172–180.
32. d'Ávila SCGP, Pagliari C, Duarte MIS. The cell-mediated immune reaction in the cutaneous lesion of chromoblastomycosis and their correlation with different clinical forms of the disease. *Mycopathologia.* 2003;156(2):51–60.
33. Schwarz C, Bouchara J-P, Buzina W, et al. Organization of patient management and fungal epidemiology in cystic fibrosis. *Mycopathologia.* 2018;183(1):7–19.
34. Khaliq MF, Ihle RE, Schirtzinger CP. Cladophialophora bantiana Cerebral Phaeohyphomycosis Complicated by Pulmonary Nocardiosis: A Tale of Two Infections. *Case reports Infect Dis.* 2019;2019:4352040.
35. Ben-Ami R, Lasala PR, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Lack of galactomannan reactivity in dematiaceous molds recovered from cancer patients with phaeohyphomycosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;66(2):200–203.
36. Capoor MR, Agarwal P, Goel M, et al. Invasive pulmonary mycosis due to *Chaetomium globosum* with false positive galactomannan test: a case report and literature review. *Mycoses.* 2016;59(3): 86–193.
37. Hagiya H, Maeda T, Kusakabe S, et al. A fatal case of *Exophiala dermatitidis* disseminated infection in an allogenic hematopoietic stem cell transplant recipient during micafungin therapy. *J Infect Chemother: official journal of the Japan Society of Chemotherapy* 2019;25(6): 463–466.
38. Robert T, Talarmin JP, Leterrier M, et al. Phaeohyphomycosis due to *Alternaria infectoria*: a single-center experience with utility of PCR for diagnosis and species identification. *Med Mycol.* 2012;50(6):594–600.

Stručné pokyny pro autory

Redakce přijímá příspěvky v češtině nebo ve slovenštině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Kromě dopisů redakci, diskuzí, zpráv a společenské rubriky jsou všechny přijaté práce recenzovány (*peer review*), přičemž se zachovává oboustranná anonymita. O výsledcích recenzního řízení a názoru redakce na konečnou úpravu článku je autor informován. Před definitivním odevzdáním do tisku bude autorovi zaslán provizorní výtisk práce k autorské korektuře, která musí být zaslána zpět do redakce do pěti pracovních dnů.

Některé články jsou uváděny v plném znění i na internetové stránce časopisu.

Příspěvky se zasílají do redakce časopisu jednak ve formě kompletního výtisku s obrazovou dokumentací a podpisy hlavního autora, jednak v elektronické podobě na CD nebo e-mailem na adresu redakce.

Titulní list obsahuje (a) údaje pro uvedení do časopisu: název, jména autorů ve zkrácené podobě a s odkazy na pracoviště, názvy pracovišť, typ sdělení a kontaktní adresu (včetně e-mailu) korespondujícího autora, (b) celá jména autorů, (c) údaje sloužící ke komunikaci autora s redakcí: telefon, fax, rodné číslo, bankovní spojení, (d) prohlášení, že zasláný text je určen pro otištění v časopisu *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* a nebyl ani nebude jinde publikován (vyloučení duplicitních publikací), a klauzuli, že spoluautoři souhlasí s textem zasláného sdělení a s uveřejněním v tomto časopisu, (e) negativní prohlášení o sponzorování či střetu zájmů; v opačném případě, kdy je práce sponzorována (grantem, jinou organizací, výrobcem apod.) nebo dochází-li ke střetu zájmů (např. autor je přímo či nepřímo zainteresován na výsledcích výroby či prodeje, je majitelem popisovaného patentu apod.), musí být tato skutečnost v závěru sdělení uvedena, (f) u klinických studií čestné prohlášení o schválení místní etickou komisí a (g) u pokusů na zvířatech prohlášení, že byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální užití zvířat. Formulář s podpisy autora a všech spoluautorů lze doplnit i během recenzního řízení.

Každý příspěvek musí být přiřazen k některému typu sdělení a podle toho je v redakci posuzován. Musí splňovat určité obsahové a formální požadavky: musí mít předepsaný rozsah, počet literárních odkazů a odpovídající souhrn v češtině (popř. slovenštině) a angličtině (viz tabulka). Původní práce se standardně rozděluje na oddíly Úvod – Materiál a metody – Výsledky – Diskuze – Závěr a má strukturovaný abstrakt rozdělený do odstavců Cíl práce, popř. východisko – (Materiál a) metody – Výsledky – Závěr, anglicky Background nebo Objective(s) – (Material and) Methods – Results – Conclusions. Přehledový článek má volnější formu, důraz je kladen na přehlednost a aktuálnost. Jednoduššími typy příspěvků jsou krátké sdělení, dopis redakci, zpráva, recenze knihy a oznámení. Doporučený postup se otiskuje ve znění, jak byl vydán garantující odbornou společností.

Grafy, schémata, tabulky, vzorce či obrázky musí být připojeny na zvláštním listu, na rubu s uvedením prvního autora a názvu práce. V textu je třeba na ně na příslušných místech uvádět odkazy. Digitální fotografie, tabulky, grafy a další ilustrace v elektronické podobě je vhodné zasílat v příloze textového souboru vždy jako samostatné dokumenty v původním formátu.

Formát bibliografických referencí je popsán a vysvětlen v podrobných pokynech, základní vzory citování literárních pramenů vyplývají z příkladů:

- Standardní článek v časopisu:
Dlouhý P, Herold I, Kolář M, et al. Postavení linezolidu v léčbě rezistentních gram pozitivních infekcí. *Klin Mikrobiol Inf Lek*. 2006;12(1):4–9.
- Článek v suplementu časopisu:
Křemen st J, Stříbrná J, Pavlíková A, et al. Metody molekulární biologie v dermatovenerologické diagnostice. *Prakt Lék*. 2005;85(Suppl 1):40–2.
- Monografie (kniha):
Wilson SJ. Blood cultures. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1992.
- Kapitola v knize:
Modr Z. Základy farmakokinetiky antibiotik. In: Vacek V, Hejzlar M (eds). Chemoterapie infekčních nemocí v klinické praxi. 1. vyd. Praha: Avicenum; 1988. s. 42–52.
- Článek ve sborníku:
Leib SL, Leppert D, Clements J, Lindberg RLP, Pfister LA, Täuber MG. Combined inhibition of tumor necrosis alpha converting enzyme and matrix metalloproteinases by BB1101 attenuates disease, mortality and brain damage in experimental bacterial meningitis (Paper 2044). Abstracts of the 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1999 September 26–29; San Francisco, USA. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1999.
- CD-ROM (1 CD ze sady):
Mildvan D. (editor). AIDS (Vol. I). In: Mandell GL (editor-in-chief). Atlas of Infectious Diseases on CD-ROM [CD-ROM]. London: Electronic Press Ltd.; 1996.
- Článek z internetu:
Scott LA, Stone MS. Viral exanthems. *Dermatol Online J*. 2003 Nov [cited 2004 Jan 10];9(3):4. Available from: <http://dermatology.cdlib.org/93/reviews/viral/scott.html>.

Převzaté rozsáhlejší partie textu a dokumentace musí být doloženy souhlasem autora a vydavatele původní publikace s otištěním. Sdělení nesmí porušit anonymitu pacienta.

Podrobné návody k členění textu a formální úpravě rukopisu, stejně jako některá pravopisná a názvoslovná doporučení, se nachází v úplných pokynech autorům na internetové stránce časopisu <http://kmil.trios.cz/>.

Tabulka: Přehled jednotlivých typů sdělení

Typ sdělení	Obvyklý rozsah	Počet literárních odkazů	Souhrn	Recenzní řízení
původní práce	8–16 normostran	10–20 referencí	strukturovaný	2 recenzenti
přehledový článek	10–20 normostran	20–50 referencí	nestrukturovaný	2 recenzenti
krátké sdělení	3–6 normostran	3–10 referencí	nestrukturovaný	1–2 recenzenti
dopis redakci	1–5 normostran	0–5 referencí	není	neprobíhá
zpráva	1–5 normostran	obvykle nejsou	není	neprobíhá