



KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE A INFEKČNÍ LÉKAŘSTVÍ

KLINIKA – VÝZKUM – INFORMACE
PŮVODNÍ PRÁCE – PŘEHLEDY – KAZUISTIKY

Interdisciplinární časopis
pro klinickou a laboratorní
medicínu, vydávaný pod
záštitou

Společnosti infekčního
lékařství

Společnosti pro
lékařskou mikrobiologii

a Společnosti pro
epidemiologii
a mikrobiologii

České lékařské společnosti
Jana Evangelisty Purkyně

Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby	5
Význam terénního testování v eliminaci hepatitidy C	13
Diagnostika dermatomykóz v laboratoři klinické mykologie: doporučený postup navržený Pracovní skupinou pro mykologii SLM ČLS JEP	18
Sentinelová studie výskytu chřipky v ÚVN Praha v sezóně 2020/2021	28

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 Chmelář, Ph.D.
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej
mikrobiologie, SLS
Doc. MUDr. Lenka Krávková, 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 Nyč, 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 Schrétér, CSc.
Klinika pro infekční 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 Zampachová
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice
České Budějovice, a. s.

OBSAH

ÚVODNÍK

J. Bardoň

3

PŮVODNÍ PRÁCE

Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby

*P. Kučová, M. Htoutou Sedláková, K. Fišerová,
K. Hricová, M. Kolář*

5

Význam terénního testování v eliminaci hepatitidy C

P. Husa ml., P. Husa

13

DOPORUČENÝ POSTUP

Diagnostika dermatomykóz v laboratoři klinické mykologie: doporučený postup navržený Pracovní skupinou pro mykologii SLM ČLS JEP

*K. Mencl, V. Buchta, N. Mallátová, I. Kocmanová,
V. Hubka, P. Hamal*

18

ZPRÁVA

Sentinelová studie výskytu chřipky v ÚVN Praha v sezóně 2020/2021

E. Bartáková, M. Holub, M. Čurdová

28

INFORMACE

Vyhlášení soutěže o nejlepší publikaci v oboru lékařská mikrobiologie za rok 2020

29

Statut ceny za nejlepší publikaci v oboru lékařská mikrobiologie

30

Obsah 26. ročníku

31

Rejstřík 26. ročníku

32



VYDAVATEL

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://kml.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 nese odpovědnost za údaje a názory autorů jednotlivých článků nebo inzerce. 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 jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem (ať mechanickým, nebo elektronickým – včetně pořizování fotokopii, nahrávek či informačních databází).



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 Beneš, 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 Chmelář, Ph.D.
Dpt. of Biomedical Sciences, University
of Ostrava's Faculty of Medicine

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

J. Bardoň

3

ORIGINAL ARTICLE

Enterococcal infections and their treatment options

*P. Kučová, M. Htoutou Sedláková, K. Fišerová,
K. Hřicová, M. Kolář*

5

Impact of outreach testing on elimination of hepatitis C

P. Husa ml., P. Husa

13

GUIDELINES

Diagnosing dermatomycoses in a clinical mycology laboratory: guidelines proposed by the Czech Society for Medical Microbiology Working Group on Mycology

*K. Mencl, V. Buchta, N. Mallátová, I. Kocmanová,
V. Hubka, P. Hamal*

18

NEWS

Sentinel testing for influenza in the Central Military Hospital Prague in the 2020/2021 season

E. Bartáková, M. Holub, M. Čurdová

28

INFORMATION

2020 Best Medical Microbiology Publication Award contest

29

Best Medical Microbiology Publication Award rules

30

Content of Vol. 26

31

Index of Vol. 26

32



spol. s r. o.

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://kml.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, milí přátelé,

vychází nové číslo našeho časopisu KMIL, a to navzdory nepříznivé nálezové situaci, která mnohé z nás zaměstnává víc než obvykle (a mnohdy víc, než je zdrávo...). Nové číslo nabízí dvě původní práce, jednu s tematikou enterokokových infekcí, druhá práce je pak věnována hepatitidě C. Součástí čísla je také doporučený postup k diagnostice dermatomykóz v laboratořích klinické mykologie. Toto číslo uzavírá sentinelová studie výskytu chřipky v ÚVN v Praze. Na závěr otiskujeme informace k soutěži o nejlepší publikaci v oboru lékařská mikrobiologie.

Úvodník k tomuto číslu píše v době, kdy se nálezová situace covid-19 začíná zlepšovat a všichni doufáme, že s příchodem letních měsíců dosáhne účinnost mixu vakcinace, promoření a počasí takové úrovně, kdy si budeme moci říct, že jsme z nejhorsšího venku. Nicméně infekční onemocnění působí v současnosti problémy nejen u člověka, ale i u zvířat. Česká republika se v současnosti potýká s několika ohnisky ptačí chřipky, kdy došlo k přenosu viru influenzy od

volně žijících ptáků do chovů domácí drůbeže. Ve všech případech se jedná o subtyp H5N8. Proti nákaze se nevakcinuje, pozitivní chovy drůbeže se utratí. Naštěstí, na rozdíl od „netopýřího“ viru SARS-CoV-2, se virus aviární influenzy chová jako skutečné virové zoonotické agens, tzn. není schopen se po případném překonání mezidruhové bariéry začít z „minuty na minutu“ explozivně šířit v humánní populaci.

Milé kolegyně, kolegové, přátelé, přeji Vám příjemné čtení, hodně zdraví, štěstí a úspěchů v osobním i pracovním životě.

Zdraví,

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

Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby

P. KUČOVÁ¹, M. HTOUTOU SEDLÁKOVÁ¹, K. FIŠEROVÁ¹, K. HRICOVÁ², M. KOLÁŘ²

¹Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc;

²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

SOUHRN

Kučová P., Htoutou Sedláková M., Fišerová K., Hricová K., Kolář M.: **Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby**

Cíl: Cílem práce je charakterizovat infekce vyvolané enterokoky ve Fakultní nemocnici Olomouc (FNOL) a definovat možnosti antibiotické léčby.

Materiál a metody: Data byla získána z laboratorního informačního systému ENVIS LIMS. Za období 1. 1. 2015 až 31. 12. 2019 byly retrospektivně hodnoceny klinicky významné enterokoky ve FNOL a jejich rezistence k antibiotikům. K identifikaci byla do poloviny roku 2016 použita kritéria Facklama a Collinse a stanovení biochemických vlastností za použití En-coccus testu, následně byly všechny enterokoky určeny za pomoci systému MALDI-TOF MS. Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST.

Výsledky: Ve sledovaném období 5 let bylo izolováno celkem 8 239 klinicky významných enterokoků. Nejčastěji izolovanými druhy byly *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*, které v období 2017–2019 tvořily více než 90 %. Enterokoky byly nejčastěji izolovány z moče (35 %), dále z chirurgických ran (17 %) a stěrů z uretry/pochvy (17 %). Klinicky významné enterokoky byly v největší míře izolovány od pacientů s onkologickou diagnózou (22 %), dále od pacientů s nemocemi močové a pohlavní soustavy (15 %) a nemocemi dýchací soustavy (9 %). U kmenů *Enterococcus faecalis* byla zaznamenána velmi nízká rezistence k testovaným antibiotikům. V případě *Enterococcus faecium* byl prokázán 24% podíl vankomycin-rezistentních kmenů (VRE).

Závěr: K primárním antibiotikům vhodným k léčbě infekcí s etiologickou rolí *Enterococcus faecalis* patří aminopeniciliny, v případě závažných infekcí v kombinaci s aminoglykosidy, především gentamicinem. U kmenů *Enterococcus faecium* je nutné volit glykopeptidy. Problém nastává u VRE, kde je k léčbě indikován linezolid či tigecyklin.

Klíčová slova: enterokoky, rezistence, infekce, antibiotika

SUMMARY

Kučová P., Htoutou Sedláková M., Fišerová K., Hricová K., Kolář M.: **Enterococcal infections and their treatment options**

Aim: The study aimed to characterize enterococcal infections at the University Hospital Olomouc and to define antibiotic treatment options.

Material and methods: The data was obtained from the ENVIS LIMS laboratory information system. Between 1 January 2015 and 31 December 2019, clinically relevant enterococci in the hospital and their resistance to antibiotics were retrospectively evaluated. Until mid-2016, criteria defined by Facklam and Collins and biochemical properties determined with the En-coccus test were used for identification. Subsequently, all enterococci were identified using the MALDI-TOF MS system. The susceptibility to antibiotics was determined using a standard microdilution method according to the EUCAST criteria.

Results: A total of 8 239 clinically relevant enterococci were isolated over the 5-year period. The most frequently isolated species were *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*, which accounted for more than 90% in the period 2017–2019. Enterococci were most frequently isolated from urine (35 %), surgical wounds (17 %) and urethral/vaginal swabs (17 %). Clinically relevant enterococci were most commonly isolated from patients with oncological diagnoses (22%), those with urinary and genital diseases (15%) and respiratory diseases (9 %). *Enterococcus faecalis* strains showed very low resistance to the antibiotics tested. *Enterococcus faecium* was shown to have 24 % proportion of vancomycin-resistant strains (VRE).

Conclusion: Primary antibiotics suitable for treating infections with the etiological role of *Enterococcus faecalis* include aminopenicillins, in case of severe infections in combination with aminoglycosides, in particular gentamicin. For *Enterococcus faecium* strains, glycopeptides must be chosen. To treat VRE, linezolid or tigecycline are indicated.

Keywords: enterococci, resistance, infection, antibiotics

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(1):4–12

Adresa: Mgr. Pavla Kučová, Ústav mikrobiologie FNOL, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, e-mail: pavla.kucova@fnol.cz

Došlo do redakce: 6. 1. 2021

Schváleno k tisku: 19. 1. 2021

Úvod

Enterokoky patří mezi důležité podmíněně patogenní bakterie. Jsou to fakultativně anaerobní grampozitivní koky, které se běžně vyskytují v gastrointestinálním traktu lidí. Mohou se uplatnit jako etiologická agens u komunitních i nozokomiálních infekcí, zejména onemocnění močového ústrojí, infekcí břicha a pánve, chirurgických ran, respiračního traktu, krevního řečiště a katérových sepsí. Enterokoky neprodukuje superantigeny, ani cytolytické enzymy a vyznačují se nižší virulencí [1]. Významná je jejich schopnost přežít v extrémních podmínkách prostředí, například růst v prostředí s 6,5 % NaCl, 40 % žluči nebo v širokém rozmezí pH (4,5–9,6). Jsou přirozeně rezistentní k mnoha antibakteriálním a dezinfekčním přípravkům [2].

Většinu klinicky relevantních kmenů (80–90 %) tvoří zástupci druhu *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* [3,4]. Další druhy, jako například *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus canintestini*, *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus pseudoavium* a *Enterococcus raffinosus*, jsou jako původci infekcí člověka izolovány vzácně [5,6,7].

Při léčbě infekcí s etiologickou rolí enterokoků je nutno zohlednit jejich primární i sekundární rezistenci k mnoha antibakteriálním přípravkům [8]. Zatímco *Enterococcus faecalis* vykazuje dobrou citlivost k aminopenicilinům, které lze považovat za léky volby, *Enterococcus faecium* je k těmto antibiotikům rezistentní a v terapii je nutno velmi často použít glykopeptidy. Druhy *Enterococcus casseliflavus* a *Enterococcus gallinarum* se vyznačují přirozenou rezistencí k vankomycinu [8]. Z uvedeného vyplývá důležitost včasné a správné identifikace jednotlivých druhů enterokoků, neboť rezistence k antibiotikům se u každého species velmi liší a už samotná informace, jaký druh způsobil infekci, může

usnadnit rozhodování o iniciální antibiotické léčbě. Problémem znesnadňujícím úspěch antibioterapie je však sekundární rezistence, především rezistence k vankomycinu. V současné době je známo 9 fenotypů rezistence enterokoků k vankomycinu, přičemž v České republice dominuje fenotyp VanA, který je charakterizován vysokou inducibilní rezistencí k vankomycinu a teikoplaninu [8]. Dalším rozšířeným a klinicky významným fenotypem je VanB kódovaný chromozomálním genem *vanB*. Enterokoky tohoto fenotypu jsou rezistentní k vankomycinu, ale mají zachovanou citlivost k teikoplaninu [9,10].

Cílem předložené práce bylo charakterizovat enterokokové infekce ve Fakultní nemocnici Olomouc (FNOL), rezistenci enterokoků k antibakteriálním přípravkům a definovat možnosti antibiotické léčby.

Materiál a metody

Data o zkoumaném souboru enterokoků a jejich rezistenci k antibakteriálním přípravkům byla získána z laboratorního informačního systému ENVIS LIMS (DS Soft, Česká republika, Olomouc) Ústavu mikrobiologie FNOL za období od 1. 1. 2015 do 31. 12. 2019. Od jednoho pacienta byl zařazen vždy jen jeden izolát, který byl vykultivován z daného biologického materiálu jako první v časovém intervalu 90 dní.

Za klinicky významné byly považovány enterokoky, které byly izolované od pacientů s infekční diagnózou, z vhodného klinického materiálu (moč, krev, hnis, kanyla, punktát, materiál z dolních cest dýchacích) a neméně důležitá byla i kvantita izolovaného enterokoku. Vankomycin-rezistentní enterokoky (VRE) byly považovány za klinicky významné i v případech izolace z gastrointestinálního traktu (GIT) a byly do studie zařazeny.

Tabulka 1

Zastoupení druhů klinicky významných enterokoků izolovaných v letech 2015–2019 ve FNOL

	2015	2016	2017	2018	2019
	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)	Abs počet (procento)
<i>Enterococcus avium</i>	5 (0)	13 (1)	14 (1)	14 (1)	18 (1)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	5 (0)	6 (0)	10 (1)	5 (0)	4 (0)
<i>Enterococcus durans</i>	0 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)	1 (0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	199 (13)	638 (41)	1 038 (61)	1 136 (67)	1 241 (72)
<i>Enterococcus faecium</i>	120 (8)	332 (22)	565 (33)	512 (30)	434 (25)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4 (0)	4 (0)	4 (0)	6 (0)	9 (1)
<i>Enterococcus hirae</i>	1 (0)	1 (0)	0 (0)	2 (0)	3 (0)
<i>Enterococcus raffinosus</i>	2 (0)	5 (0)	16 (1)	15 (1)	10 (1)
<i>Enterococcus</i> sp.	1 232 (78)	538 (35)	53 (3)	11 (1)	2 (0)
<i>Enterococcus malodoratus</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)	1 (0)

K identifikaci byla do poloviny roku 2016 použita kritéria Facklama a Collinse a stanovení biochemických vlastností za použití En-coccus testu, následně byly všechny enterokoky určeny za pomoci systému MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics, Billerica, USA) [11]. Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST [12]. K protokolované kontrole kvality byl použit referenční kmen *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. U VRE byla dále testována citlivost k linezolidu pomocí E-testu podle metodiky EUCAST [12].

Enterokoky, včetně VRE, byly charakterizovány podle klinického materiálu, z kterého byly izolovány, základní diagnózy, místa hospitalizace, resp. kliniky a věku pacientů. Pro účely analýzy enterokokových infekcí podle věku pacientů byly stanoveny věkové kategorie 0, 1–10, 11–20, 21–30, atd.

Výsledky

V období od 1. 1. 2015 do 31. 12. 2019 bylo celkem zachyceno 11 392 izolátů *Enterococcus* sp. Z tohoto počtu bylo jako klinicky významných stanoveno 8 239 (72 %) kmenů. Nejčastěji izolovanými druhy byly *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*, které v letech 2017–2019 reprezentovaly přes 90 % všech izolovaných enterokoků. V letech 2015 a 2016 bylo 39 % enterokoků identifikováno jako *Enterococcus* sp. Zastoupení jednotlivých druhů ve sledovaném období je uvedeno v tabulce 1.

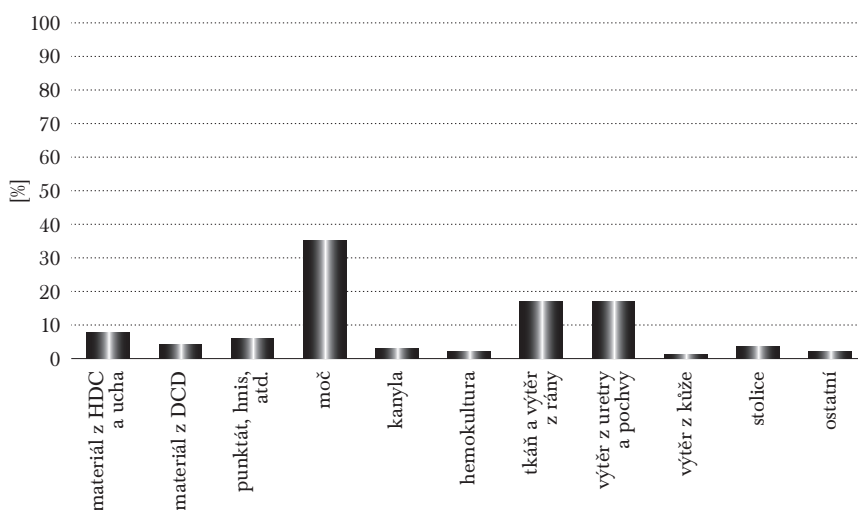
V grafu 1 je znázorněn výčet klinických materiálů s pozitivní izolací enterokoků. Z výsledků vyplývá, že nejčastěji byly izolovány z moče (35 %), dále ze stěrů z uretry/pochvy (17 %) a tkání/ran (17 %). Naopak s nejmenší frekvencí byly izolovány z hemokultur (2 %) a stěrů kůže (1 %).

Z porovnání jednotlivých klinik FNOL je zřejmý nejvyšší záchyt klinicky významných enterokoků na Porodnicko-gynekologické (16 %) a Hemato-onkologické (11 %) klinice. Na ostatních klinikách byl výskyt těchto kmenů pod 10 % (graf 2).

Dalším sledovaným kritériem byly základní diagnózy pacientů, u kterých byly enterokoky zachyceny. Nejvíce klinicky významných kmenů (22 %) bylo izolováno u pacientů s onkologickou diagnózou. Téměř 15 % kmenů bylo izolováno od pacientů s urogenitálními infekcemi, 9 % enterokoků pocházelo od pacientů s nemo-

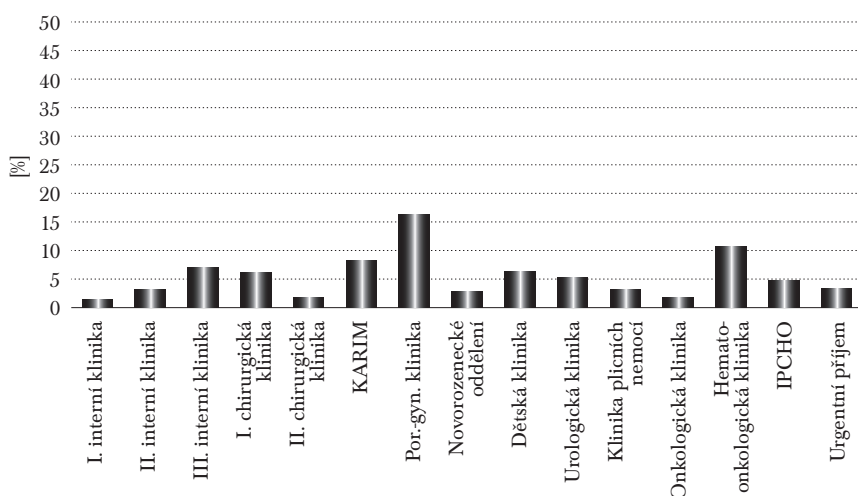
bylo izolováno u pacientů s onkologickou diagnózou. Téměř 15 % kmenů bylo izolováno od pacientů s urogenitálními infekcemi, 9 % enterokoků pocházelo od pacientů s nemo-

Graf 1
Rozložení enterokoků podle klinických materiálů u pacientů FNOL v letech 2015–2019 (v procentech)



Legenda: HDC – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací

Graf 2
Rozložení enterokoků podle klinik a oddělení FNOL za období 2015–2019 (v procentech)



Legenda: KARIM – Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, IPCHO – Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů

Tabulka 2

Rezistence *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* k vybraným antibiotikům ve FNOL (v procentech)

<i>Enterococcus faecalis</i>					
	2015 (195 kmenů)	2016 (634 kmenů)	2017 (1 036 kmenů)	2018 (1 136 kmenů)	2019 (1 240 kmenů)
AMP	3	1	1	0	0
TEI	0	0	0	0	0
TIG	3	1	1	0	0
VAN	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus faecium</i>					
	2015 (119 kmenů)	2016 (330 kmenů)	2017 (557 kmenů)	2018 (511 kmenů)	2019 (433 kmenů)
TEI	15	25	29	26	21
TIG	3	2	5	2	2
VAN	15	27	30	26	22

Legenda: AMP – ampicilin, TEI – teikoplanin, TIG – tigecyklin, VAN – vankomycin

cemi dýchací soustavy a přes 8 % kmenů od pacientů s nemocemi trávicí nebo oběhové soustavy. Dále bylo detekováno 8 % enterokokových infekcí spojených s těhotenstvím, porodem a šestinedělím.

Analýza podle věku pacientů ukázala, že u pacientů do 50 let věku byly klinicky významné enterokoky zachyceny v každé věkové kategorii pouze do 10 %. Ve věkové kategorii 51–60 let již podíl stoupá na 12 % a ve věku 61 až 70 let bylo izolováno až 21 % klinicky významných enterokoků. U pacientů mezi 71 až 80 lety bylo detekováno 19 % enterokoků. Od 81 let již podíl zachycených enterokoků klesá na 10 %. U kojenců bylo za sledované pětileté období izolováno celkem 338 enterokoků, což je necelých 5 % z celkového počtu zachycených kmenů.

Tabulka 2 uvádí rezistenci *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* k vybraným antibiotikům v jednotlivých letech. U *Enterococcus faecalis* je zřejmá velmi nízká rezistence ke všem testovaným antibakteriálním přípravkům. K ampicilinu a tigecyklinu je rezistence maximálně 3 %. U kmenů izolovaných z urogenitálního traktu rezistence k nitrofurantoinu činila 2 %. U tohoto species nebyl zaznamenán žádný vankomycin-rezistentní kmen. U druhu *Enterococcus faecium* byl prokázán 24% podíl VRE. Rezistence k linezolidu v případě VRE nepřesáhla 1 %.

Ve sledovaném období 5 let bylo identifikováno celkem 553 VRE, což činí téměř 7 % ze všech izolovaných enterokoků. Všechny VRE byly identifikovány jako *Enterococcus faecium*. Nejčastěji byly tyto kmény izolovány ze stolice (44 %) a dýchacích cest (23 %). Celkové rozdělení VRE podle biologického materiálu, ze kterého byly tyto kmény izolovány, ukazuje graf 3.

Zajímavá je distribuce VRE na jednotlivých klinikách FNOL (graf 4). Nejvíce VRE (72 %) bylo izolováno na Hemato-onkologické klinice, na Klinice anesteziologie, re-

suscitace a intenzivní medicíny (9 %) a na Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů (4 %).

Při srovnání výskytu podle diagnóz bylo 78 % VRE zachyceno u onkologických pacientů, 8 % u pacientů s onemocněním dýchací soustavy a 4 % u pacientů s nemocemi oběhové soustavy. U dalších základních diagnóz se procento záchytu kmenů VRE pohybovalo pod 2 %. U těhotných žen a u žen po porodu nebyl zachycen žádný VRE.

Z analýzy distribuce VRE podle věku pacientů je zřejmý výskyt pod 5 % ve věkových kategoriích do 30 let, u pacientů 31–40 let byl 7% výskyt a v kategorii 41–50 let bylo zachyceno 14 %. U pacientů ve věkové kategorii 51–60 bylo izolováno 29 % VRE. Od 61 let je patrné snížení počtu VRE na 26 %, resp. 13 % u pacientů nad 70 let a 6 % nad 80 let.

Prevalence VRE dle biologického materiálu a místa hospitalizace pacienta, resp. kliniky, uvádí tabulka 3. Podíl VRE izolovaných ze stolice a perianálního stěru činil v jednotlivých letech 64–100 %. Vysokou prevalenci VRE vykazoval rovněž materiál z HCD (až 34 %). V ostatních klinických materiálech nebyl tento údaj vyšší než 15 %. Při porovnání prevalence VRE na jednotlivých klinikách byla nejvyšší hodnota (16–54 %) zaznamenána na Hemato-onkologické klinice. Na ostatních klinikách byla prevalence VRE maximálně 14 %.

Při pohledu na základní diagnózy byla nejvyšší prevalence VRE zaznamenána u novotvarů a nemocí krve a imunity (až 35 %), u ostatních skupin diagnóz dosahovala maximálně 10 %.

Rovněž byla porovnána prevalence VRE ve věkových kategoriích a nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u pacientů ve věku 51–60 let (až 26 %) a 41–50 let (až 22 %). U dětí a mladistvých do 20 let byla prevalence VRE maximálně 2 %.

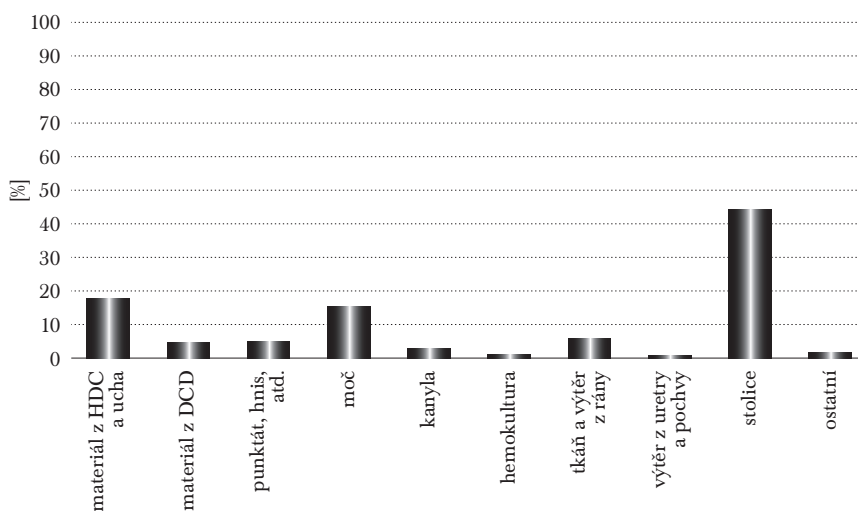
Diskuze

Podle amerického surveillance systému NHSN (National Healthcare Safety Network) byly v letech 2011–2014 enterokokové infekce druhou nejčastější nozokomiální nákazou [13]. Fiore et al. dodávají, že enterokoky způsobují 14 % nozokomiálních infekcí a 5–20 % komunitních infekcí [14]. Jako nejčastěji se vyskytující druhy Fisher et al. uvádějí *Enterococcus faecalis* (63 %) a *Enterococcus faecium* (28 %). Podobné výsledky publikovali Wang et al., kteří uvádějí, že enterokoky jsou zodpovědné za 10 % infekcí novorozenců a nejvíce jsou zastoupeny druhy *Enterococcus faecalis* (72 %) a *Enterococcus faecium* (10 %) [15, 16]. V období 2015–2019 bylo ve FNOL izolováno 8 239 klinicky významných kmenů enterokoků, přičemž se jednalo převážně o druhy *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. V letech 2015 a 2016 je zřejmý vysoký podíl enterokoků (39 %), které nebyly druhově identifikovány. Tato okolnost byla způsobena technickými a organizačními opatřeními, které se v polovině roku 2016 změnilo se zavedením rutinního používání identifikačního systému MALDI-TOF. Lze předpokládat, že poměr zastoupení jednotlivých druhů byl i v těchto letech podobný jako v letech následujících (2017–2019), kdy zastoupení druhu *Enterococcus faecalis* činilo 66 % a v případě *Enterococcus faecium* 29 %.

V předložené práci byly enterokoky nejčastěji izolovány ze vzorků moči (35 %), stěrů z urogenitální oblasti (17 %) a stěrů z ran (17 %). Močové infekce a infekce v urogenitální oblasti s enterokokovou etiologií jsou velmi časté. Yadav et al. ve své práci udávají vysoký výskyt (70 %) enterokoků v moči, podobně jako Kanthisheree et al. (72 %) [17,18]. Jak uvádějí Kreft et al., enterokoky využívají plasmidem kódované agregační substance, adheziny a povrchové proteiny, které jim umožní adherovat na buňky renální epitelu a přežít na nich. Zároveň jsou enterokoky schopné růst ve formě biofilmu, přežít na umělých materiálech a podílet se na vzniku katetrových infekcí [19]. Garg et al. ve své práci uvádějí, že enterokoky se podílely jako původci u 6 % katetrových infekcí [20]. V naší práci byl podíl enterokoků u katetrových infekcí stanoven na 3 %.

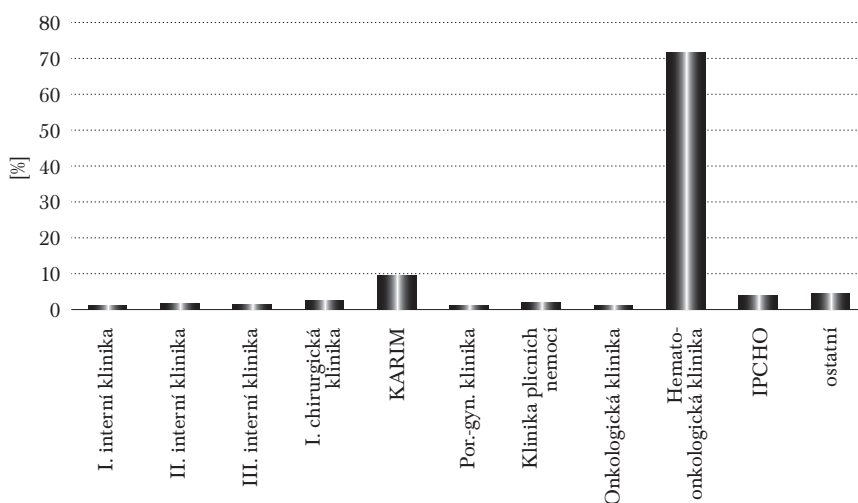
Při srovnání klinik FNOL bylo nejvíce enterokokových infekcí na klinice Porodnicko-gynekologické (16 %) a He-

Graf 3
Rozložení VRE podle klinických materiálů u pacientů FNOL za období 2015–2019 (v procentech)



Legenda: HDC – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací

Graf 4
Rozložení VRE podle jednotlivých klinik a oddělení FNOL za období 2015–2019 (v procentech)



Legenda: KARIM – Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, IPCHO – Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů

Tabulka 3
Prevalence VRE v jednotlivých klinických materiálech, na vybraných klinikách a odděleních FNOL
(celkový počet enterokoků v absolutní hodnotě, v závorce procento)

	2015	2016	2017	2018	2019
Materiál z HCD a ucha	151 (3)	109 (20)	114 (34)	120 (18)	121 (9)
Materiál z DCD	66 (5)	59 (2)	88 (9)	75 (5)	73 (12)
Punktát, hnis, exsudát	96 (1)	97 (3)	89 (3)	113 (11)	102 (9)
Moč	520 (1)	514 (4)	602 (3)	567 (4)	679 (3)
Kanyly	61 (2)	82 (4)	60 (5)	66 (9)	42 (12)
Hemokultura	24 (4)	30 (3)	20 (15)	22 (5)	20 (5)
Tkáň a výtěr z rány	278 (1)	270 (2)	255 (4)	287 (3)	298 (2)
Výtěr z uretry a pochvy	297 (0)	236 (0)	266 (0)	319 (0)	278 (1)
Výtěr z kůže	19 (1)	17 (0)	22 (0)	29 (0)	41 (2)
Stolice a perianální stěr	67 (3)	67 (64)	102 (91)	71 (93)	40 (100)
Ostatní	40 (0)	43 (5)	43 (9)	31 (6)	4 (26)
	2015	2016	2017	2018	2019
I. interní klinika	21 (4)	28 (0)	26 (4)	22 (0)	29 (14)
II. interní klinika	47 (0)	60 (3)	48 (2)	45 (11)	68 (3)
III. interní klinika	136 (1)	108 (0)	101 (1)	105 (0)	137 (3)
I. chirurgická klinika	95 (0)	113 (1)	96 (5)	111 (4)	95 (5)
II. chirurgická klinika	22 (0)	22 (0)	27 (4)	25 (0)	31 (3)
KARIM	127 (5)	137 (7)	132 (5)	139 (14)	143 (6)
Porodnicko-gynekolog. klinika	298 (0)	226 (0)	246 (0)	306 (1)	266 (2)
Novorozenecké oddělení	75 (0)	39 (0)	40 (0)	37 (0)	35 (3)
Dětská klinika	107 (0)	96 (0)	95 (0)	106 (0)	102 (0)
Urologická klinika	67 (0)	64 (0)	99 (1)	89 (0)	114 (0)
Klinika plicních nemocí a TBC	51 (0)	25 (0)	49 (2)	58 (5)	75 (9)
Onkologická klinika	21 (0)	32 (3)	22 (5)	21 (0)	41 (10)
Hemato-onkologická klinika	70 (16)	204 (39)	284 (54)	188 (52)	144 (38)
IPCHO	80 (1)	77 (3)	72 (8)	100 (7)	64 (9)
Urgentní příjem	38 (0)	40 (0)	61 (0)	52 (0)	84 (0)

Legenda: HCD – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací, KARIM – Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, IPCHO – Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů

mato-onkologické (11 %). U pacientů Hemato-onkologické kliniky se ve FNOL aplikuje aktivní screening bakteriálních kmenů se závažnými fenotypy antibiotické rezistence, včetně VRE, který probíhá pomocí inokulace biologického materiálu na vyhledávací půdy (Chromogenní půdy Brillance, Oxoid Česká republika, Brno) a případné kolonie jsou následně dále vyšetřovány. Tím je způsoben vyšší záchyt nosičských enterokoků, včetně VRE z krku a stolice, které by u jiných pacientů byly zahrnuty do fyziologické flóry (en-

terokoky z GIT se v běžné populaci druhově neurčují a ne-testují na rezistenci k antibiotikům). Není proto nijak překvapující, že nejvíce kmenů enterokoků bylo izolováno od hemato-onkologických pacientů.

Z výsledků naší práce je patrné, že u pacientů do 50 let je podíl enterokokových infekcí nízký (pod 10 %). S věkem četnost infekcí způsobených enterokoky stoupá. Ve věku 51–60 let je podíl enterokokových infekcí 12 % a v kategorii 61–70 let 21 %. Od věku 71 let podíl klesá na 19 % a od

81 let na 10 %. Odlišné výsledky enterokokových infekcí ve věkových skupinách pacientů publikovali Yadav et al., kteří uvádějí nejčastější výskyt (23 %) u pacientů mezi 20–30 lety, mezi 30–60 lety pak 15 % a následně snižování od 60 let na 7–6 % [17]. Tento rozdíl je způsoben nejspíše různou socioekonomickou situací pacientů a zároveň odlišným typem nemocničního zařízení.

Problematika bakteriální rezistence k antibiotikům, včetně rezistence enterokoků, představuje v posledních letech závažný problém epidemiologický, terapeutický i ekonomický [21]. V roce 2013 označila CDC (Centers for Disease Control and Prevention) VRE jako vážnou hrozbu a doporučila aktivity vedoucí k jejich zvýšené kontrole a prevenci [13]. Studie Evropského střediska pro kontrolu a prevenci infekcí (ECDC) odhadla, že počet infekcí a mortalita asociovaná s VRE se mezi lety 2007–2015 téměř zdvojnásobila [22].

V naší práci byl zjištěn nejčastější výskyt VRE ve stolici (44 %). Enterokoky ve stolici jsou přirozenou součástí mikroflóry, nicméně 244 vankomycin-rezistentních kmenů ze stolice (3 % všech enterokoků) bylo shledáno jako klinicky významných na základě provádění aktivního screeningu u hemato-onkologických pacientů. Z horních cest dýchacích bylo izolováno 18 % VRE a 15 % z moči.

Gambarotto et al. ve své prospektivní studii sledovali prevalenci kolonizujících kmenů VRE v gastrointestinálním traktu u hematologicky nemocných pacientů. Udávají, že až 37 % těchto pacientů bylo nosiči VRE [23]. Podobné výsledky prezentují i Yoon et al., kteří se zaměřili na kolonizaci trávicího traktu u pacientů na jednotkách intenzivní péče. U 37 % těchto pacientů izolovali kmeny VRE v rektálních stěrech [24]. V případě hemato-onkologických pacientů v naší studii činila prevalence VRE v GIT 7 % [25]. Popsaný aktivní screening, aplikovaný na našem pracovišti je velmi žádoucí. Bylo prokázáno, že VRE jakožto součást mikroflóry gastrointestinálního traktu mohou vlivem chemoterapie translokovat do krve a případně dalších systémů, kde mohou především u imunosuprimovaných pacientů vyvolat závažnou infekci [26]. Gedik et al. ve své práci uvádějí, že kolonizace rekta kmeny VRE je významným faktorem při možném výskytu následné bakteriémie [27]. Jejich výsledky dokumentují, že u 40 % hematologických pacientů došlo ke kolonizaci VRE a u 4 % se následně rozvinula bakteriémie vyvolaná těmito kmeny.

O'Driscoll et al. ve své práci uvádějí, že nejvíce kolonizujících kmenů VRE se vyskytuje v gastro-intestinálním a urogenitálním traktu [28]. Zvýšené riziko kolonizace VRE se objevuje při imunosupresi, hematologických malignitách, transplantaci orgánů a při dlouhodobých pobytech na jednotkách intenzivní péče. Dále ve své práci uvádějí, že hlavní příčinou infekcí močových cest, spojených se zdravotní péčí jsou právě VRE [28].

Léčba enterokokových infekcí může představovat problém z důvodu jejich rezistence k celé řadě antibiotik. Největším úskalím je iniciální antibiotická terapie, kdy ještě není známo etiologické agens a ani jeho citlivost k antibiotikům. Ošetřující lékař musí vycházet především z informací týkajících se pacienta (věk, komorbidity, celkový stav, předchozí hospitalizace a antibiotická léčba), konkrétní infekce (lokality, rozsah) a epidemiologických dat daného zdravot-

nického zařízení, resp. oddělení. K tomu slouží právě epidemiologické přehledy tohoto typu, pomáhající při rozhodování o iniciální antibiotické terapii.

Vzhledem ke skutečnosti, že většina infekcí je způsobena druhem *Enterococcus faecalis*, který je citlivý k aminopenicilinům a ve FNOL nebyl v posledních pěti letech zachycen ani jeden kmen tohoto species rezistentní k vankomycinu, může být antibiotická terapie zahájena aminopeniciliny, v případě těžších infekcí v kombinaci s gentamicinem. Alternativně lze uvažovat o penicilinových přípravcích s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam, piperacilin/tazobaktam), v případě nekomplikovaných cystitid může být použit nitrofurantoin či fosfomycin. U nitrobřišních infekcí, které často bývají polymikrobiální, může být použit tigecyklin [29]. V případě *Enterococcus faecium* nebyl v naší studii izolován kmen citlivý k ampicilinu. Rezistence k aminopenicilinům je často sdružená s rezistencí ke gentamicinu, takže lékem volby jsou glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin) [30,31]. Při podezření na VRE (přítomnost rizikových faktorů, imunokompromitovaní pacienti, předcházející pozitivní kultivace), případně při selhání antibiotické léčby, je indikován linezolid jako lék první volby, popř. tigecyklin.

Závěr

Enterokoky jsou a stále budou významnými bakteriálními patogeny. Jejich primární i sekundární rezistence ztěžuje antibiotickou terapii. Studie, jako je tato, by měla pomoci klinickým lékařům správně a včas nasadit iniciální antibiotickou terapii. Neméně významný je příspěvek k surveillance závažných fenotypů bakteriální rezistence, včetně VRE.

Podpořeno grantem AZV ČR č. NV18-05-00340 a projektem IGA_LF_2020_022.

Literatura

- Moellering RC Jr. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin Infect Dis*. 1992;14:1173–1176.
- Vágnarová I, Kolář M. Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky. *Klin Farmakol Farm*. 2003;17:170–173.
- McBride SJ, Upton A, Roberts SA. Clinical characteristics and outcomes of patients with vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* bacteremia – a five-year retrospective review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29:107–114.
- Sood S, Malhotra M, Das BK, et al. Enterococcal infections & Antimicrobial resistance. *Indian J Med Res*. 2008;128:111–121.
- Aguirre M, Collins MD. Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl Bacteriol*. 1993;75:95–107.
- Ahmed FZ, Baig MW, Gascoyne-Binzi D, et al. *Enterococcus cecorum* aortic valve endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:525–527.
- Tan CK, Lai CC, Wang JY, Lin SH, et al. Bacteremia caused by non-faecalis and non-faecium enterococcus species at a Medical center in Taiwan, 2000 to 2008. *J Infect*. 2010;61:34–43.
- Kolář M. Problematika vankomycin-rezistentních enterokoků. *Klin Mikrobiol Inf Léč*. 2018;24:50–56.
- Klare I, Witte E, Wendt C, et al. Vancomycin-resistant enterococci (VRE). Recent results and trends in development of antibiotic resistance. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2012;55:1387–1400.

10. Raynolds PE, Courvalin P. Vancomycin resistance in enterococci due to synthesis of precursors terminating in D-alanyl-D-serine. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:21–25.
11. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by conventional test scheme. *J clin microbiol* 1989;27:731–734.
12. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints.
13. Levitus M, Rewane A, Perera TB. Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) [Updated 2020 Mar 30]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/>
14. Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of enterococci. *Microbiol Spectr*. 2019;7:10.
15. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*. 2009;155:1749–1757.
16. Wang J, Kortsalioudaki C, Heath PT, et al. Epidemiology and healthcare factors associated with neonatal enterococcal infections. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019;104:480–485.
17. Yadav G, Thakuria B, Madan M, Agwan V, Pandey A. Linezolid and vancomycin resistant enterococci: A therapeutic problem. *J Clin Diagn Res*. 2017;11:7–11.
18. Kanthishree BH, Shashikala N, Sunil Kumar D, Sangeetha S. Isolation, identification and speciation of enterococci and their antimicrobial susceptibility in a tertiary care hospital. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*. 2014;3:13893–13899.
19. Kreft B, Marre R, Schramm U, Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun*. 1992;60:25–30.
20. Garg S, Mohan B, Taneja N. Biofilm formation capability of enterococcal strains causing urinary tract infection vis-a-vis colonisation and correlation with enterococcal surface protein gene. *Indian J Med Microbiol*. 2017;35:48–52.
21. Puchter L, Chaberny IF, Schwab F, et al. Economic burden of nosocomial infections caused by vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7:1.
22. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, et al. Attributable deaths and disability-adjusted lifeyears caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis* 2019;19:56–66.
23. Gambarotto K, Ploy MC, Turlure P, Grélaud C, Martin C, Bordessoule D, Denis F. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a cattle-rearing area of France. *J Clin Microbiol*. 2000;38:620–624.
24. Yoon YK, Lee MJ, Ju Y, et al. Determining the clinical significance of co-colonization of vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the intestinal tracts of patients in intensive care units: a case-control study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2019;18:28.
25. Hricová K, Štosová T, Kučová P, Fišerová K, Bardoň J, Kolář M. Analysis of vancomycin-resistant enterococci in hemato-oncological patients. *Antibiotics*. 2020;9:785.
26. Jorde JZ, Bates J, Griffiths DT. Fecal carriage and nosocomial spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother*. 1994;34:515–528.
27. Gedik H, Yıldırım T, Simşek F, et al. Vancomycin-resistant enterococci colonization and bacteremia in patients with hematological malignancies. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8:1113–1118.
28. O'Driscoll T, Crank CW. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resist*. 2015;8:217–230.
29. Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, et al. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resist Updat*. 2018;40:25–39.
30. Nicoletti G, Stefani S. Enterococci: susceptibility patterns and therapeutic options. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1995;14:33–37.
31. Cisterna R, Ibarra K, Morla A, Basaras M, Cisterna C, Herreras A, Borja J. Multicenter study of resistance in enterococci. The role of teicoplanin. Spanish group for study and surveillance of resistance. *Rev Esp Quimioter*. 1999;12:237–243.

Význam terénního testování v eliminaci hepatitidy C

P. HUSA ml.^{1,2}, P. HUSA^{1,2}

¹Klinika infekčních chorob, Fakultní nemocnice Brno; ²Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

SOUHRN

Husa P. ml., Husa P.: **Význam terénního testování v eliminaci hepatitidy C**

Cíl práce: Analýza změn v souboru pacientů s chronickou hepatitidou C (CHC) léčených přímo působícími antiviroty (DAA) se zaměřením na rizikové faktory přenosu nákazy. Zhodnocení významu zřízení terénní ambulance a spolupráce s organizacemi zaměřujícími se na léčbu a poradenství jedinců užívajících drogy nitrožilně (PWIDs).

Metody: Retrospektivní analýza pacientů s CHC léčených v letech 2018–2020 na Klinice infekčních chorob Fakultní nemocnice Brno s meziročním srovnáním sledovaných parametrů.

Výsledky: Ve sledovaném období bylo léčeno celkem 291 pacientů (101 v roce 2018; 111 v roce 2019 a 79 v roce 2020). Při srovnání výsledků z let 2018, 2019 a 2020 meziročně výrazně stoupl podíl pacientů nakažených v souvislosti s nitrožilní aplikací drog (46,5 %; 64,9 % a 65,8 %) a klesl podíl infekce genotypem 1b viru hepatitidy C (52,5 %; 46,9 % a 38 %) na úkor infekce genotypem 3a (23,8 %; 30,6 % a 35,4 %). Snížil se i věk léčených (medián 43, 40 a 38 let) a podíl pacientů s cirhózou jater (20,8 %; 15,3 % a 12,7 %). Zvýšilo se procento pacientů, u kterých byla terapie DAA zahájena do 1 roku od stanovení diagnózy (47,5 %; 53,2 % a 62 %) a stoupl podíl pacientů indikovaných k léčbě díky spolupráci s organizacemi a lékařskými zařízeními zaměřujícími se na práci s PWIDs (5,9 %; 25,2 % a 25,3 %). Určitou komplikací bylo relativně vysoké procento pacientů, kteří nedokončili celou plánovanou dobu sledování, tedy 12 týdnů po skončení léčby (19,8 %; 23,4 a 22,3 %). Většinou však šlo o pacienty, kteří přestali docházet na kontroly až po poslední dávce DAA, takže léčbu dokončili dle plánu.

Závěry: PWIDs se postupně stávají dominantní skupinou pacientů s CHC, což s sebou nese snížení věku léčených osob, zvýšení zastoupení genotypu 3a a snížení pokročilosti jaterního poškození. Mění se spektrum pacientů vyžaduje i jiný přístup ze strany lékařů. Zřízení terénních ambulancí a spolupráce s organizacemi pracujícími s PWIDs se ukazuje jako efektivní způsob zlepšení diagnostiky a léčby CHC.

Klíčová slova: chronická hepatitida C, HCV, terénní ambulance, terénní testování, PWIDs, eliminace hepatitidy C

SUMMARY

Husa P. ml., Husa P.: **Impact of outreach testing on elimination of hepatitis C**

Objectives: Analysis of changes in a group of patients with chronic hepatitis C (CHC) treated with direct-acting antivirals (DAAs) with a special focus on risk factors for transmission. Evaluation of cooperation with organizations working with people who inject drugs (PWID) including the impact of outreach testing.

Methods: A retrospective analysis and interannual comparison of CHC patients treated with DAAs at the Department of Infectious Diseases, University Hospital Brno, Czech Republic between 2018 and 2020.

Results: A total of 291 (101 in the year 2018, 111 in 2019 and 79 in 2020) patients with CHC have been treated. Comparison of results from the years 2018, 2019 and 2020 demonstrated a significant rise in the proportion of PWID (46.5 %, 64.9 % and 65.8 %, respectively). Also the proportion of genotype 3a infection (23.8 %, 30.6 % and 35.4 %) increased at the expense of genotype 1b infection (52.5 %, 46.9 % and 38.0 %). By contrast, the median age (43, 40 and 38 years) and the proportion of patients with liver cirrhosis decreased (20.8 %, 15.3 % and 12.7 %). The percentage of patients started on DAA therapy within one year of diagnosis increased (47.5 %, 53.2 % and 62.0 %). And so did the proportion of patients receiving therapy as a result of cooperation with organizations and facilities working with PWID (5.9 %, 25.2 % and 25.3 %). The downside was high numbers of patients lost to follow-up (19.8 %, 23.4 % and 22.3 %). Those were mostly patients who completed their therapy as planned and were only lost to after receiving the final dose of DAAs.

Conclusions: The fact that PWID have gradually become the dominant group of CHC patients is accompanied by a younger age of treated patients, a higher proportion of those with genotype 3a and less advanced liver damage. The changing spectrum of CHC patients makes medical professionals change their approach. Outreach testing and cooperation with organizations working with PWID have proved an effective way of improving the diagnosis and treatment of CHC.

Keywords: chronic hepatitis C, HCV, outreach testing, outreach screening, PWID, HCV elimination

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(1):13–17

Adresa: MUDr. Petr Husa ml., Klinika infekčních chorob, FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, e-mail: husa.petr2@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 3. 2. 2021

Schváleno k tisku: 19. 3. 2021

Úvod

Přes revoluci v léčbě, kterou znamenal objev přímo působících antivirotik (DAA), zůstává chronická hepatitida C (CHC) stále velkým globálním problémem. Dle poslední epidemiologické zprávy Světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2015 je na světě nakaženo virem hepatitidy C (HCV) asi 71 milionu lidí a asi 400 tisíc nakažených ročně umírá [1]. Ani Česká republika (ČR) není ušetřena a incidence CHC se drží již několik let nad 1 000 nových případů ročně. Počet případů má navíc stoupající tendenci (*graf 1*). Pokles incidence za rok 2020 je dán vlivem pandemie covid-19 na odkladnou péči, za kterou se diagnostika a léčba CHC dá považovat [2].

Uvedení DAA do klinické praxe v roce 2011 poskytlo nástroj k efektivní léčbě CHC [3]. V současnosti užívané pangenotypové režimy dosahují efektivity 95–100 % a mají jen nevýznamné nežádoucí účinky [4]. V reakci na přesvědčivé výsledky DAA vyhlásila WHO v roce 2016 ambiciózní plán eliminace chronických hepatitid B a C do roku 2030. I přes absenci vakcíny proti HCV je cílem diagnostikovat 90 % všech případů CHC, 80 % všech diagnostikovaných léčit, snížit počet nových případů o 90 % a mortalitu o 65 % proti roku 2015 [5].

Brzy se ukázalo, že eliminační strategie v reálném světě narazí na řadu překážek. Klíčovou populaci ve vyspělých státech tvoří silně marginalizovaná skupina lidí užívajících nitrožilně drogy (PWIDs), kteří mají mnohdy špatné zkušenosti se zdravotnickým systémem a bývají často stigmatizováni ze strany zdravotnického personálu, což znesnadňuje jejich diagnostiku a léčbu [6]. Jako jedno z možných řešení, jak zlepšit diagnostiku a léčbu PWIDs, se ukázalo zavedení terénního screeningu v místech narkomanům známých, kde se cítí bezpečněji než ve standardních lékařských zařízeních. Jde například o kontaktní a poradenská centra (K-centra), výdejny opioidní substitute, ubytovny Armády Spásy a podobná zařízení [7,8].

Na základě eliminační iniciativy WHO zahájila v červnu 2018 Klinika infekčních chorob Fakultní nemocnice Brno (KICH FNB) spolupráci s lokálním poradenským centrem pro narkomany provozovaným společností Podané ruce, o. p. s. (SPR). Byla zřízena terénní ambulance, která jednou za 3 týdny vyšetřuje klienty SPR v jejich zařízeních. Dále jsou pořádány pravidelné přednášky s diskuzemi s peer pracovníky SPR a dalších podobných organizací po celé Moravě. Podařilo se i navázat spolupráci s lékaři adiktologických oddělení psychiatrických klinik a sociálními pracovníky terapeutických komunit.

Cílem následující práce je zhodnotit praktický dopad uvedených aktivit a zároveň analyzovat prudce se měnící spektrum pacientů s CHC, kde začínají dominovat PWIDs nad původně hlavní rizikovou skupinou osob, které se nakazily transfuzí krve a krevních derivátů.

Metody

Soubor pacientů

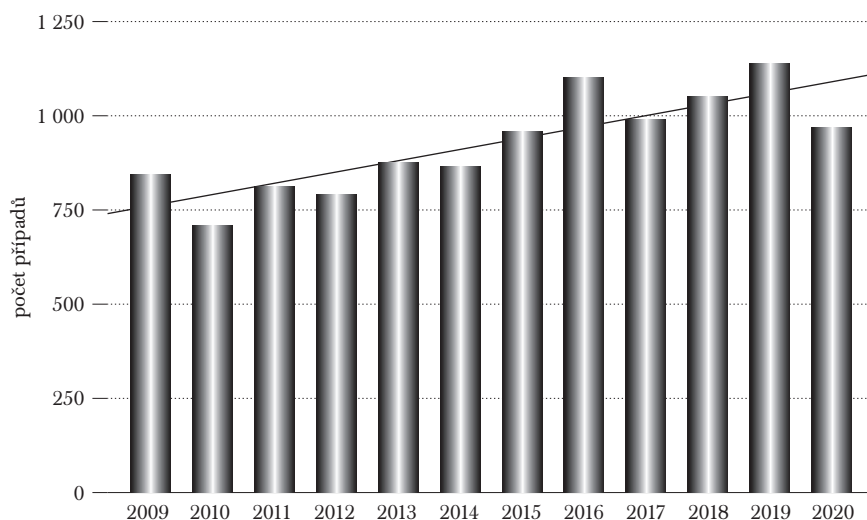
Do studijního souboru byly zařazeni všichni pacienti s chronickou hepatitidou C, kteří zahájili antivirovou terapii na KICH FNB v období od 1. 1. 2018 do 31. 12. 2020. Do souboru byly zařazeny i pacienti, u kterých v době přípravy tohoto sdělení léčba či sledování po léčbě ještě neskončily. Výsledná data byla získána retrospektivní analýzou pacientské dokumentace, uložené v nemocniční databázi FNB. Věk je uváděn v době zahájení léčby. Doba od nákazy do zahájení terapie byla uvedena dle odpovědi pacienta na cílenou otázku.

Údaje o předpokládané akvizici nákazy jsou uváděny v podobě nejpravděpodobnějšího rizikového faktoru udaného pacientem. U přenosu infekce tetováním bylo za rizikové považováno provedení v amatérských podmínkách sdílenou jehlou, nejčastěji v průběhu výkonu trestu spoluzněm či v případě dvou pacientů původem z Ukrajiny a Maďarska v rámci výkonu základní vojenské služby. U iatrogenního přenosu se nejčastěji jednalo o podání krevní transfuze či krevního derivátu, operační výkon, či plazmaferézu provedenou před rokem 1992. U jednoho pacienta původem z Pákistánu šlo o očkování provedené jednou jehlou u všech obyvatel v jeho vesnici.

Obdobně jsou uvedeny údaje o abúzu drog na základě informací poskytnutých pacientem. Toxikologické vyšetření moči či krve provedeno nebylo. Lze očekávat, že část pacientů neuvěděla pravdivé či kompletní informace, zejména z důvodu možné stigmatizace, ač jim bylo vysvětleno, že ani aktivní užívání drog není kontraindikací terapie. U části pacientů došlo k přiznané či nepřiznané recidivě abúzu drog během terapie a následného sledování.

Graf 1

Roční incidence CHC v České republice v letech 2009–2020 s vyznačenou spojnicí trendu [2]



Laboratorní testy a elastografie jater

Ke stanovení diagnózy HCV infekce byla použita detekce nukleové kyseliny (HCV RNA) v krvi pacienta pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) provedené v sérologické laboratoři FNB za použití komerčně dostupných kitů. Stejná laboratoř provedla i genotypizaci HCV. Stanovení genotypu nebylo technicky možné u pacientů s nízkou hladinou virémie (zpravidla pod 1 000 IU/ml) v nejméně dvou vyšetřeních provedených v odstupu minimálně jednoho měsíce.

Stupeň tuhosti jaterní tkáně byl posouzen pomocí transientní elastografie za použití přístroje Fibroscan® (Echosens, Paříž, Francie) před zahájením léčby antivirotiky. K interpretaci výsledku byla použita mobilní aplikace MyFibroScan® od stejného výrobce. Výsledek je uváděn na stupnici jaterní fibrózy: F0-1 (žádná či minimální), F2 (středně pokročilá), F3 (těžká), F4 (cirhóza).

Léčba a sledování

K terapii u všech pacientů byly použity pouze bezinterferonové režimy ve shodě se soudobými národními doporučeními vydanými Českou hepatologickou společností a Společností infekčního lékařství České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně [9]. Vzhledem k rychlému vývoji DAA v posledních letech byly během studovaného období uvedeny do praxe nové pangentypové režimy, a naopak starší genotypově specifické režimy přestaly být používány.

Kontroly byly prováděny při zahájení terapie, dále po čtyřech týdnech v průběhu terapie, na konci terapie a minimálně 12 týdnů po ukončení léčby ke stanovení setrvalé virové odpovědi (SVR). Jeden pacient je zařazen do souboru za roky 2018 i 2020, protože došlo k reinfekci jiným genotypem HCV a byl léčen dvakrát.

Výsledky

Soubor pacientů

Celkem bylo za sledované tři roky na KICH FNB léčeno 291 pacientů s CHC (101 v roce 2018, 111 v roce 2019 a 79 v roce 2020). Základní charakteristiky z jednotlivých let jsou uvedeny v *tabulce 1*. Pokles léčených v roce 2020 je způsoben pandemií covid-19, která vedla k výraznému omezení péče o jiné diagnózy, včetně CHC. Je naznačen pokles věku léčených pacientů (43, 40 a 38 let). Zvýšil se podíl infekce genotypem 3a (23,8 %; 30,6 % a 35,4 %) na úkor in-

fekce genotypem 1b (52,5 %; 46,9 % a 38 %). Zastoupení infekce genotypem 1a se významně nezměnilo (21,8 %; 18,9 % a 20,3 %).

Výrazně se změnilo složení populace vzhledem k pravděpodobně cestě infikování HCV. Zvýšil se podíl přenosu nitrožilní aplikací drog (46,5 %; 64,9 % a 65,8 %) a ubylo pacientů nakažených transfuzemi a během jiných lékařských zákroků (28,7 %; 12,6 % a 6,3 %). Podíl jiných cest přenosu infekce HCV se mezi sledovanými roky významně nelišil. Snížil se podíl pacientů s cirhózou jater (20,8 %; 15,3 % a 12,7 %) a pacientů s těžkou fibrózou jater (12,9 %; 8,1 %

Tabulka 1
Základní charakteristiky léčených pacientů v letech 2018–2020

Rok	2018	2019	2020
Počet pacientů	101	111	79
Podíl žen	32 (31,7 %)	40 (36 %)	29 (36,7 %)
Medián věku	43	40	38
Genotyp			
1a	22 (21,8 %)	21 (18,9 %)	16 (20,3 %)
1b	53 (52,5 %)	52 (46,9 %)	30 (38 %)
3a	24 (23,8 %)	34 (30,6 %)	28 (35,4 %)
Jiný genotyp*	2 (2 %)	4 (3,6 %)	5 (6,3 %)
Akvizice HCV			
PWIDs	47 (46,5 %)	72 (64,9 %)	52 (65,8 %)
Iatrogenní	29 (28,7 %)	14 (12,6 %)	5 (6,3 %)
Tetování	8 (7,9 %)	4 (3,6 %)	6 (7,6 %)
Sex	3 (3 %)	4 (3,6 %)	5 (6,3 %)
Vertikální	0	0	1 (1,3 %)
Neznámý	14 (13,9 %)	17 (15,3 %)	10 (12,7 %)
Elastografie			
0–1	48 (47,5 %)	67 (60,4 %)	50 (63,3 %)
2	19 (18,8 %)	18 (16,2 %)	13 (16,4 %)
3	13 (12,9 %)	9 (8,1 %)	6 (7,6 %)
4	21 (20,8 %)	17 (15,3 %)	10 (12,7 %)
Doba od diagnózy k léčbě			
< 12 měsíců	48 (47,5 %)	54 (53,2 %)	49 (62 %)
13–60 měsíců	14 (13,8 %)	20 (18 %)	12 (15,2 %)
61–120 měsíců	8 (7,9 %)	8 (7,2 %)	6 (7,6 %)
121–240 měsíců	10 (9,9 %)	12 (10,8 %)	9 (11,4 %)
> 241 měsíců	13 (12,9 %)	9 (8,1 %)	3 (15,2 %)
Nelze dohledat	8 (7,9 %)	8 (7,2 %)	0

* Zahrnuje i pacienty s genotypy 2, 4, 6, smíšeným genotypem 1a/1b a neurčeným genotypem.

a 7,6 %) na úkor pacientů s minimální či žádnou fibrózou (47,5 %; 60,4 % a 63,3 %). Zvýšil se i podíl nakažených, u kterých byla zahájena terapie DAA do 1 roku od zjištění infekce HCV (47,5 %; 53,2 % a 62 %).

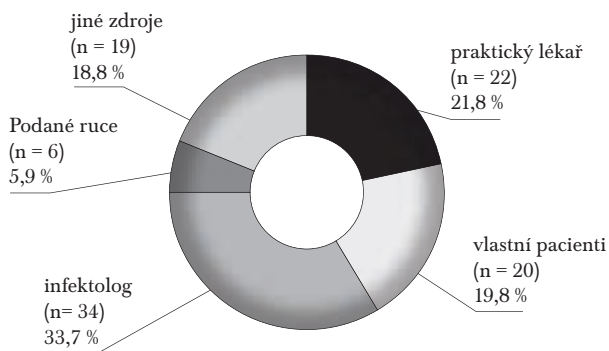
Drogový status

Ze 101 lidí léčených v roce 2018 uvedlo užívání drog, kdykoliv ve svém životě, 47 osob (46,5 %). Aktivní abúzus

přiznali jen 3 z nich (6,4 %) a jeden (3,2 %) pacient byl na metadonové substituci. O rok později přiznalo aplikaci drog v anamnéze 74 (66,7 %) léčených, z toho 4 (5,4 %) udali aktivní užívání. Výrazně narostl podíl pacientů na metadonové substituci (10; 13,5 %), což bylo zejména díky spolupráci se zdravotní sestrou z výdejny metadonu, která začala provádět odběry v rámci terénní ambulance ve SPR, a odeslala k léčbě několik svých klientů. V roce 2020 přiznalo konzumaci drog 52 (65,8 %) léčených, z toho 11 (21,2 %) aktivních a 4 (7,7 %) na metadonu. Jasně dominující drogou byl ve všech letech pervitin (70,2 %; 64,9 % a 63,5 %).

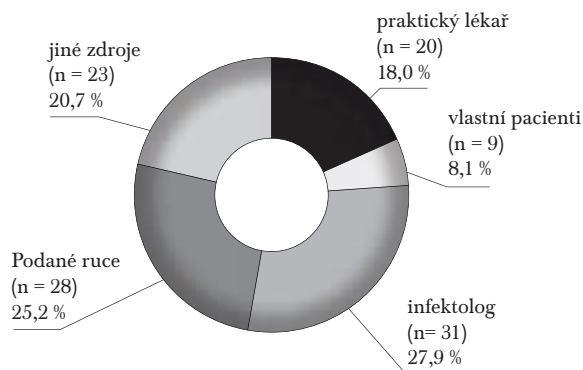
Graf 2

Původ pacientů léčených v roce 2018 (n = 101)



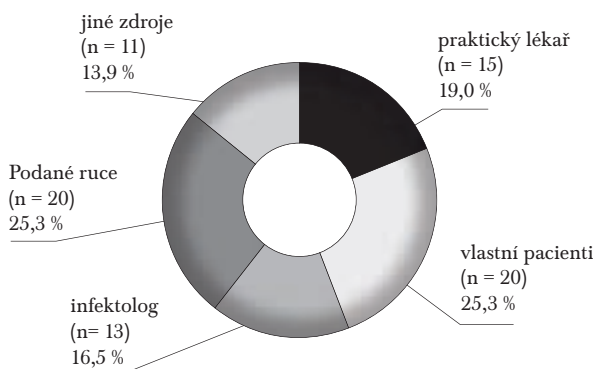
Graf 3

Původ pacientů léčených v roce 2019 (n = 111)



Graf 4

Původ pacientů léčených v roce 2020 (n = 79)



Původ pacientů a compliance

V grafech 2–4 je znázorněn původ pacientů léčených v jednotlivých letech. Mezi vlastní pacienty patřili zejména jedinci již dříve neúspěšně léčení interferonovými režimy, dále pacienti hospitalizovaní na KICH FNB pro jinou diagnózu než CHC, klienti HIV centra s koinfekcí HIV/HCV či pacienti diagnostikovaní dříve, se kterými byl přechodně ztracen kontakt. Počet pacientů odeslaných od praktických lékařů byl relativně stabilní (21,8 %; 18 % a 19 %). Klesal počet osob odeslaných od jiných infektologů z ambulancí a oddělení, které nemají přístup k centrové léčbě DAA (33,7 %; 27,9 % a 16,5 %). Po zahájení spolupráce s SPR stoupl počet pacientů získaných z terénní ambulance (5,9 %; 25,2 % a 25,3 %). Do této skupiny byli zařazeni i pacienti odeslaní z K-center, jiných zařízení pro PWIDs, terapeutických komunit a psychiatrických klinik, se kterými se podařilo navázat spolupráci.

Určitou komplikací bylo relativně vysoké procento pacientů, kteří nedokončili celou plánovanou dobu sledování, tedy 12 týdnů po skončení léčby (19,8 %; 23,4 a 22,3 %). Většinou však šlo o pacienty, kteří přestali docházet na kontroly až po poslední dávce DAA, takže léčbu dokončili dle plánu. DAA byly pacientům vydávány vždy po 1 balení, dostatečným na 4 týdny léčby, tj. do dalšího termínu kontroly. Před vydáním celé plánované dávky DAA přestalo docházet na kontroly jen minimum pacientů (5 %; 2,7 % a 0 %).

Diskuze

Uvedené výsledky potvrzují již dříve popsany trend nárůstu výskytu infekce genotypem 3a na úkor infekce genotypem 1b, který je však stále nejfrekventovanějším genotypem v ČR a okolních státech střední Evropy [10,11]. Důvodem je změna hlavní cesty přenosu HCV, kdy začíná dominovat skupina PWIDs, u nichž byl opakovaně popsán vyšší výskyt genotypu 3a než u příjemců krve a krevních derivátů [11, 12]. Od roku 1992 jsou v ČR plošně testováni dárce krve na přítomnost protilátek anti-HCV, což vedlo k vymizení iatrogeních infekcí, a populace nakažených krevní cestou již byla ve většině případů vyléčena, či zemřela [13]. Vzhledem k pozorovanému trendu lze na základě výše uvedeného očekávat, že genotyp 3a se stane v nejbližších letech dominantním genotypem v ČR.

Pozitivním jevem je klesající věk léčených pacientů a s tím související i menší zastoupení osob s významným poškozením jater (F3-F4). Asociace mezi stupněm poškození jater a věkem v době akvizice nákazy i diagnózy CHC byla opakovaně jasně prokázána [14,15]. Nižší věk léčených pacientů zřejmě souvisí s vyšším podílem PWIDs a s lepší

dostupností diagnostiky i léčby CHC. Roli bude hrát i vyšší úspěšnost terapie, kdy jen minimum vyžaduje opakovanou terapii DAA, tzv. záchranný režim [16]. Dobrou dostupnost léčby potvrzuje i zvyšující se podíl pacientů, u kterých je terapie zahájena do 1 roku od stanovení diagnózy infekce HCV (62 % v roce 2020).

Jako efektivní se ukazuje změna strategie získávání nových pacientů s CHC. Navázání spolupráce s organizacemi a zdravotnickými zařízeními, které pracují s drogově závislými, zřízení terénní ambulance i přednášková činnost mezi pracovníky uvedených zařízení, to vše vedlo k získání velkého počtu pacientů, kteří by se jinak k léčbě dostávali jen s obtížemi. Systematická práce s PWIDs a jejich podpůrnými organizacemi přináší výsledky i v podobě nárůstu počtu pacientů, kteří se k nám dostávají na doporučení svých příbuzných a kamarádů ze stejné komunity, kteří byli úspěšně léčeni na KICH FNB. Většinou se jedná o bývalé narkomany či klienty na dlouhodobé opioidní substituci. Ve skupině aktivních uživatelů drog se stále daří léčit jen omezené množství jedinců z důvodu nízké compliance, i když i v této skupině pacientů dochází k postupnému nárůstu léčených (6,4 %; 5,4 % a 21,2 %). Dle doporučení Evropské asociace pro studium jater (EASL) má být právě tato skupina v léčbě preferována pro vysoké riziko dalšího přenosu infekce [16].

Relativně vysoké procento pacientů, kteří nedokončili celou plánovanou dobu sledování, tedy 12 týdnů po skončení léčby (19,8 %; 23,4 % a 22,3 %), je hlavním úskalím léčby PWIDs. Před vydáním celé plánované dávky DAA přestalo docházet na kontroly jen minimum našich pacientů (5 %, 2,7 % a 0 %). Při vysoké účinnosti léčby DAA lze očekávat, že drtivá většina z nich dosáhla setrvalé virologické odpovědi a trvale u nich vymizela infekce HCV. V námi prezentovaném souboru byla adherence k léčbě srovnatelná s větší studií provedenou Fosterem a spolupracovníky, kde nezávisle na drogovém statutu byla adherence 96 % [17].

Závěr

Populace pacientů s CHC se rychle mění. Se zvyšujícím se podílem PWIDs je třeba změnit i přístup k její diagnostice a léčbě, pokud má být dosaženo eliminačních cílů WHO. Nelze očekávat, že pacienti přijdou k lékaři sami, ale je nutné pacienty aktivně vyhledávat. Navázání spolupráce s organizacemi zabývajícími se léčbou a poradenstvím PWIDs se ukazuje jako jediné možné řešení. Zároveň je třeba se obrnit vysokou mírou trpělivosti, protože spolupráce s PWIDs není ani zdaleka ideální. Výrazné snížení výskytu CHC v této extrémně rizikové části populace však ochrání významnou část našeho obyvatelstva před infekcí HCV v budoucnosti.

Seznam zkratk

CHC	chronická hepatitida C
DAA	direct-acting antivirals (přímo působící antivirotika)
EASL	European Association for the Study of the Liver (Evropská asociace pro studium jater)
HCV	virus hepatitidy C
KICH	Klinika infekčních chorob
PCR	polymerázová řetězová reakce

PWIDs	People/person who inject drugs (jedinci užívající nitrožilní drogy)
RNA	ribonukleová kyselina
SPR	Společnost Podané ruce, o. p. s.
SVR	sustained virological response (setrvalá virová odpověď)
WHO	World Health Organisation (Světová zdravotnická organizace)

Literatura

- WHO. Hepatitis C [Internet]. [cited 2020 Oct 30]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
- SZÚ. ISIN, Hlášení infekcí v ČR [Internet]. Infekce v ČR-ISIN (dříve EPIDAT). [cited 2021 Jan 24]. Available from: <http://www.szu.cz/publikace/data/2020>
- Strader DB, Seeff LB. A brief history of the treatment of viral hepatitis C. *Clin Liver Dis*. 2012;1(1):6–11.
- Zoratti MJ, Siddiqua A, Morassut RE, Zeraatkar D, Chou R, Holten J van, Xie F, Druyts E. Pangenotypic direct acting antivirals for the treatment of chronic hepatitis C virus infection: A systematic literature review and meta-analysis. *EClinicalMedicine* [Internet]. Elsevier 2020 [cited 2021 Jan 31];18. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/eclinm/article/PIIS2589-5370\(19\)30242-1/abstract](https://www.thelancet.com/journals/eclinm/article/PIIS2589-5370(19)30242-1/abstract) PMID: 31922124
- WHO. Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030 Advocacy brief [Internet]. WHO; 2021. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/206453/1/WHO_HIV_2016.04_eng.pdf
- Dore GJ, Martinello M, Alavi M, Grebely J. Global elimination of hepatitis C virus by 2030: why not? *Nat Med*. 2020;26(2):157–160.
- Selvapatt N, Ward T, Harrison L, Lombardini J, Thursz M, McEwan P, Brown A. The cost impact of outreach testing and treatment for hepatitis C in an urban Drug Treatment Unit. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2017;37(3):345–353. PMID: 27566283
- Kim H, Guerrero R, Reader SW, Daheri M, Balakrishnan M, Troisi CL, El-Serag HB, Thrift AP. Low Yield of Hepatitis C Infection in an Outreach Screening Program in Harris County, Texas. *Open Forum Infect Dis*. 2020 [cited 2021 Jan 31];7(ofaa191). Available from: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa191>
- Urbánek P, Fraňková S, Husa P, Sperl J, Plíšek S, Rožnovský L, Kümpeľ P. Standardní diagnostický a terapeutický postup chronické infekce virem hepatitidy C (HCV). *Gastroenterol Hepatol*. 2019;73: 101–125.
- Aceró Fernández D, Ferri Iglesias MJ, Buxó Pujolràs M, López Nuñez C, Serra Matamala I, Queralt Molés X, Aldeguer Manté X. Changes in the epidemiology and distribution of the hepatitis C virus genotypes in North-Eastern Spain over the last 35 years. *Gastroenterol Hepatol*. Elsevier 2018;41(1):2–11.
- Krekulová L, Řehák V, Strunecký O, Němeček V. Current Situation and Trends in the Hepatitis C Virus Genotype Distribution among Injecting Drug Users in the Czech Republic. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. 2009;58:84–89.
- Robaey G, Bielen R, Azar DG, Razavi H, Nevens F. Global genotype distribution of hepatitis C viral infection among people who inject drugs. *J Hepatol*. 2016;65(6):1094–1103. PMID: 27520879
- Hůlek P, Urbánek P a kolektiv. *Hepatology: 3. vydání*. Praha: Grada Publishing, a. s.; 2018.
- Minola E, Prati D, Suter F, Maggiolo F, Caprioli F, Sonzogni A, Fraquelli M, Paggi S, Conte D. Age at infection affects the long-term outcome of transfusion-associated chronic hepatitis C. *Blood*. 2002; 99(12):4588–4591. PMID: 12036892
- de Oliveira AC, Bortotti AC, Nunes NN, El Bacha IAH, Parise ER. Association between age at diagnosis and degree of liver injury in hepatitis C. *Braz J Infect Dis*. 2014;18(5):507–511.
- Pawlotsky J-M, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dushenko G, Marra F, Puoti M, Wedemeyer H. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol*. 2020; 73(5):1170–1218.
- Foster GR, Dore GJ, Wang S, Grebely J, Sherman KE, Baumgarten A, Conway B, Jackson D, Asselah T, Gschwantler M, Tomaszewicz K, Aguilar H, Asatryan A, Hu Y, Mensa FJ. Glecaprevir/pibrentasvir in patients with chronic HCV and recent drug use: An integrated analysis of 7 phase III studies. *Drug Alcohol Depend*. 2019;194:487–494.

Diagnostika dermatomykóz v laboratoři klinické mykologie: doporučený postup navržený Pracovní skupinou pro mykologii SLM ČLS JEP

K. MENCL¹, V. BUCHTA², N. MALLÁTOVÁ³, I. KOČMANOVÁ⁴, V. HUBKA^{5,6}, P. HAMAL⁷

¹Oddělení klinické mikrobiologie, Pardubická krajská nemocnice; ²Ústav klinické mikrobiologie, LF UK v Hradci Králové;

³Pracoviště parazitologie a mykologie, Centrální laboratoře Nemocnice České Budějovice, a. s.;

⁴Oddělení klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Brno;

⁵Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze;

⁶Laboratoř genetiky a metabolismu hub, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, v. v. i., Praha;

⁷Ústav mikrobiologie, LF Univerzity Palackého v Olomouci a FN Olomouc

SOUHRN

Mencl K., Buchta V., Mallátová N., Kocmanová I., Hubka V., Hamal P.: **Diagnostika dermatomykóz v laboratoři klinické mykologie: doporučený postup navržený Pracovní skupinou pro mykologii SLM ČLS JEP**

Tento návrh doporučeného postupu laboratorní diagnostiky dermatomykóz byl vypracován na základě odborné diskuze členů Pracovní skupiny pro mykologii Společnosti pro lékařskou mikrobiologii České lékařské společnosti JEP (PSM SLM ČLS JEP). Vychází z dokumentu „Doporučený postup laboratorní diagnostiky dermatomykóz“ zveřejněného na webových stránkách SLM ČLS JEP 23. 6. 2020 k všeobecné odborné diskuzi.

Dosud byly pokyny v této oblasti mykologické laboratorní diagnostiky omezeny pouze na informace v příručkách a neexistoval žádný ucelený a systematický dokument na uvedené téma. Tuto mezeru se členové PSM SLM ČLS JEP snažili zaplnit, a vzniklo tak doporučení, pokrývající všechny části dermatomykologické laboratorní problematiky, od způsobu získání kvalitní anamnézy, správného postupu při odběru vzorků, jejich vyšetřování konvenčními mikroskopickými a kulturačními technikami, až po interpretaci získaných výsledků. Do této základní osnovy byly začleněny informace o diagnostickém potenciálu nových, moderních technologií, zejména molekulárně genetických metod a hmotnostní spektrometrie. Nedávno došlo k vypracování standardní evropské metodiky pro testování citlivosti dermatofytů k antimykotikům, proto byla i tato problematika do doporučení zahrnuta. Je samozřejmě počítáno s budoucí periodickou revizí tohoto dokumentu na základě nových poznatků.

Klíčová slova: dermatomykózy, laboratorní diagnostika, dermatofyty, mikroskopické metody, kulturační metody, identifikace, citlivost na antimykotika

SUMMARY

Mencl K., Buchta V., Mallátová N., Kocmanová I., Hubka V., Hamal P.: **Diagnosing dermatomycoses in a clinical mycology laboratory: guidelines proposed by the Czech Society for Medical Microbiology Working Group on Mycology**

This draft of guidelines for the laboratory diagnosis of dermatomycoses was developed based on discussion among members of the Czech Society for Medical Microbiology Working Group on Mycology. The document Guidelines for the Laboratory Diagnosis of Dermatmycoses was published for discussion on the Czech Society for Medical Microbiology website on 23 March 2020.

Until recently, recommendations concerning this area of laboratory diagnosis in mycology were only limited to information in manuals and no comprehensive and systematic document concerning these issues was available. In an effort to fill the gap, members of the working group developed recommendations covering various laboratory aspects of mycology, from obtaining a proper history, to adequate sampling techniques, sample analyses using conventional microscopy and culture techniques, to interpretation of results. Additional information was on the diagnostic potential of novel, modern technology, in particular molecular genetic methods and mass spectrometry. The recently developed European standards for testing the susceptibility of dermatophytes to antifungals were also included in the recommendations. The document will be regularly updated based on new findings.

Keywords: dermatomycoses, laboratory diagnosis, dermatophytes, microscopy methods, culture methods, identification, antifungal susceptibility

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(1):18–27

Adresa: doc MUDr. Petr Hamal, Ph. D., Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci, Hněvotínská 976/3, 775 15 Olomouc, e-mail: petr.hamal@fnol.cz

Došlo do redakce: 22. 2. 2021

Schváleno k tisku: 29. 2. 2021

Úvod

V rutinní mykologické laboratoři jsou vyšetřeny kůže a kožních adnex s podezřením na houbovou infekci běžným diagnostickým postupem. Ke zmíněnému účelu postačuje zpravidla pouze část z jejího základního vybavení, specifikovaného v dokumentu „Nepodkročitelné minimum diagnostiky mykóz v laboratoři lékařské mykologie“, především to konzervativní, tedy mikroskop a termostaty [1]. Avšak jsou-li na pracovišti k dispozici moderní technologie typu hmotnostní spektrometrie či molekulární genetiky, doporučuje se je i v této oblasti mikrobiologické diagnostiky využít [2,3].

Z metodického hlediska je i v dermatomykologii základním požadavkem standardizace jednotlivých vyšetřovacích postupů. To se týká zvláště výběru kultivačních půd, teploty a délky inkubace. Většina akreditovaných mykologických laboratoří má za tímto účelem vypracované tzv. standardní operační postupy (SOP). Není na závadu, pokud se metodologicky a technologicky vzájemně mírně liší, pokud jsou pečlivě dodržovány a v rámci mezilaboratorní srovnatelnosti výsledků vedou k stejným nebo velmi podobným závěrům či interpretacím.

Vzhledem k tomu, že se u dermatomykóz jedná téměř výhradně o postižení kůže a jejích adnex, tedy míst většinou dobře viditelných a snadno přístupných a že se nejedná o život ohrožující infekce, je získání vzorků k vyšetření poměrně snadné a nehrozí nebezpečí z prodlení. V případě sporných, nebo raritních nálezu je také většinou možné odběry biologického materiálu a jejich mykologické vyšetření zopakovat.

Původci dermatomykóz bývají nejčastěji dermatofyty, o něco vzácněji kandidy, ale zejména u onychomykóz se můžeme setkat i s méně obvyklými druhy kvasinek (např. z rodů *Trichosporon*, *Geotrichum*, na kůži pak s *Malassezia* spp.) a jinými vláknitými houbami, včetně běžných ubikvitních (většinou označovaných jako „saprofytické plísňe“, např. z rodů *Scopulariopsis*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Onychocola*, *Chaetomium*) [4–7].

Rodové a druhové spektrum dermatofytů, se kterými se můžeme setkat v České republice, je přehledně sumarizováno v tab. 1. Jsou v ní uvedeny

i některé starší varianty jejich názvů, které jsou však stále používány [8]. Zmíněný výčet je založen na epidemiologických datech z let 2011–2019, která byla sbírána v rámci multicentrické studie napříč Českou republikou. Některé její průběžné výsledky již byly

publikovány [9,10]. Konečná identifikace izolátů byla vždy provedena sekvencováním oblasti ITS rDNA [3,8]. Rozdělení jednotlivých druhů dermatofytů podle klinických jednotek, které způsobují, včetně jejich četnosti, je demonstrováno v tab. 2.

Tabulka 1
Druhy dermatofytů zachycené v České republice podle ekologie původců
(Řazení ve sloupcích je podle četnosti od nejběžnějších druhů po vzácné, v závorkách jsou uvedena případná běžná synonyma jmen.)

Antropofilní	Zoofilní	Geofilní
<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Trichophyton benhamiae</i> (<i>Arthroderma benhamiae</i>)	<i>Nannizzia persicolor</i> (<i>Microsporium persicolor</i>)
<i>Trichophyton interdigitale</i> ²	<i>Microsporium canis</i>	<i>Nannizzia gypsea</i> (<i>Microsporium gypseum</i>)
<i>Trichophyton tonsurans</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ²	<i>Nannizzia fulva</i> (<i>Microsporium fulvum</i>)
<i>Epidermophyton floccosum</i>	<i>Trichophyton verrucosum</i>	<i>Arthroderma quadrifidum</i> (<i>Trichophyton terrestris</i> komplex)
<i>Microsporium ferrugineum</i>	<i>Trichophyton quinckeanum</i>	<i>Arthroderma onychocola</i> (<i>Trichophyton onychocola</i>)
<i>Trichophyton soudanense</i>	<i>Trichophyton erinacei</i>	<i>Arthroderma crocatum</i>
<i>Trichophyton violaceum</i>	<i>Trichophyton equinum</i>	<i>Nannizzia incurvata</i> (<i>Microsporium incurvatum</i>)
	<i>Trichophyton bulbosum</i>	<i>Nannizzia preacox</i> (<i>Microsporium preacox</i>)
		<i>Nannizzia aenigmatica</i> (<i>Microsporium aenigmaticum</i>)
		<i>Nannizzia perplicata</i>
		<i>Arthroderma insingulare</i> (<i>Trichophyton terrestris</i> komplex)
		<i>Paraphyton mirabile</i> (<i>Microsporium mirabile</i>)
		<i>Paraphyton cutaneum</i>

¹Druhy uvedené pod čarou se dají považovat ze extrémně vzácné v ČR (zachyceno < 5 případů mezi roky 2011–2019).

²Dle současného konceptu (de Hoog et al. 2017) je obtížné rozlišit druhy *T. interdigitale* a *T. mentagrophytes*, a to i pomocí molekulárních metod. Lokální doporučení je používat pro oba druhy název *T. interdigitale*, případně *T. interdigitale/T. mentagrophytes*.

Tabulka 2

Druhy dermatofytů zachycené v České republice podle hlavních klinických jednotek, které způsobují.
V závorce je uvedeno přibližné procentuální zastoupení.

Onychomykóza	Tinea pedis	Tinea capitis	Tinea hladké kůže (corporis, faciei, cruris)
<i>T. rubrum</i> (~93 %)	<i>T. rubrum</i> (~89 %)	<i>M. canis</i> (~41 %)	<i>T. rubrum</i> (~51 %)
<i>T. interdigitale</i> (~6 %)	<i>T. interdigitale</i> (~9 %)	<i>T. benhamiae</i> (~32 %)	<i>T. benhamiae</i> (~24 %)
ostatní druhy ~1 %	<i>E. floccosum</i> (~2 %)	<i>T. rubrum</i> (~15 %)	<i>M. canis</i> (~10 %)
	ostatní druhy < 1 %	<i>T. tonsurans</i> (~6 %)	<i>T. interdigitale</i> / <i>T. mentagrophytes</i> (~8 %)
		<i>T. interdigitale</i> / <i>T. mentagrophytes</i> (~3 %)	<i>N. persicolor</i> (~2 %)
		<i>Nannizzia gypsea</i> (~1 %)	<i>N. gypsea</i> (~1 %)
		<i>T. soudanense</i> (~1 %)	<i>T.n verrucosum</i> (~1 %)
		<i>T. verrucosum</i> (~1 %)	<i>N. fulva</i> (~0,5 %)
			<i>Arthroderma</i> spp. (~0,5 %)
			<i>E. floccosum</i> (~0,2 %)
			ostatní druhy < 2 %

Tento text je určen nejen pracovníkům mykologických laboratoří a dermatologům, ale i všem dalším zájemcům o problematiku kožních mykotických infekcí. Měl by sloužit jako doporučení optimálního postupu při průkazu výše uvedených mikromycet v klinických vzorcích, jejich identifikaci a interpretaci nálezů. Jeho základem je dokument „Doporučený postup laboratorní diagnostiky dermatomykóz“, zveřejněný na webových stránkách Společnosti pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP k odborné diskuzi [11]. Metodologicky vychází zejména z klasických tuzemských monografií, resp. manuálů, doplněných o významné a recentní zahraniční publikace na toto téma [4,12–16].

Obecný postup dermatomykologického vyšetření

Rámcově jej lze rozdělit do šesti částí:

- anamnéza
- odběrové techniky
- metody přímé diagnostiky
- kultivační postupy
- identifikace mikromycet
- interpretace nálezů

Pokud není odběrová místnost součástí laboratorního pracoviště, je kvalitní provedení prvních dvou postupů závislé na klinických lékařích a dalších částí pak na laboratorních pracovnících.

1. Anamnéza

Sběr anamnestických dat je vzhledem k epidemiologické charakteristice dermatofytů velmi důležitou částí celého vy-

šetření a jeho provedení musí splňovat několik procesních postupů, přehledně demonstrováných na obr. 1.

Na základě zhodnocení, zda se primárně jedná o traumatické postižení kůže, nebo jen o prosté ložisko, je třeba získat údaje, které umožní bližší orientaci v případě a co nejkvalitnější provedení laboratorního vyšetření [17]. V případě pozitivní kultivace mohou takové údaje přispět ke správné identifikaci etiologického agens.

V rámci **osobní anamnézy** je zjištění rizikových faktorů směrodatné pro diferenciální diagnostiku mykóz a finální rozhodování o etiologické roli zachycených hub, ale také pro odhad úspěšnosti terapie a možných recidiv infekce. Zvláštní pozornost je třeba věnovat onemocněním, jako je diabetes mellitus, dále poruchám imunity, protinádorové terapii a z hlediska následné antimykotické léčby i poškození funkce jater a ledvin. Mykotické infekce mohou imitovat řadu dermatologických chorob, jejichž odlišení může být při diagnostice klíčové, a může na ně upozornit i negativní mykologický nález, zvláště opakovaný. Patří mezi ně seboroická dermatitida, psoriáza, pyodermie, impetigo contagiosa, pityriasis rosea Gibert, numulární ekzém, erythema multiforme, fixní lékový exantém, pseudotinea amiantacea, folliculitis decalvans, pseudopelade, chronický diskoidní erytematodes, alopecia areata, lichen planus a další.

Profesní anamnéza představuje velmi důležitou část získaných dat, protože s sebou nese forenzní důsledky, prokáže-li se, že postižení kůže je v přímé souvislosti se zaměstnáním [18].

Cestovatelská anamnéza, která bývá často opomíjena, může výrazně ovlivnit spektrum provedených kultivačních metod a v případě podezření na některé endemické mykózy, způsobené např. zástupci rodů *Blastomyces* nebo *Coccidioid-*

des, je zásadní pro ochranu laboratorních pracovníků při manipulaci s primárním biologickým vzorkem i následném procesu identifikace zachycené dimorfní houby.

Rodinná anamnéza bývá téměř stejně důležitá, zvláště při zjištění styku s domácími mazlíčky [19]. Přitom se může jednat pouze o náhodný kontakt, ke kterému došlo např. při návštěvě, nebo chalupaření. Významný může být i pohyb v oblastech výskytu divoce žijících druhů zvířat [20]. Rizikem se mohou stát také různé sportovní a volnočasové aktivity, zejména návštěva plaveckých a jiných zařízení se společnými sprchami.

Lze tedy konstatovat, že získání kvalitních anamnestických údajů je jednou z nejdůležitějších částí procesu dermatomykologického vyšetření. Klinické lékaře, kteří provádějí odběry biologického materiálu sami a vzorek pošlou jen s minimem informací, je nutné edukační činností přesvědčovat o nutnosti poskytnutí co nejkomplexnější anamnézy pro získání kvalitního výsledku, včetně jeho interpretace.

2. Odběrové techniky

Odběry kůže a kožních adnex provádějí většinou dermatologové přímo ve svých ordinacích, obvykle na základě více či méně typického vzhledu lézí [2]. Byla-li však taková místa před návštěvou lékaře ošetřována lokálními antimykotiky, je třeba počkat 10–14 dní, v případě onychomykóz i několik týdnů. Vlastní odběr je nezbytné zahájit důkladnou dekontaminací infikovaného místa 70% čistým etanolem a počkat až do jeho úplného zaschnutí [12,15]. Pokud takovou očistu nelze provést (např. u malých dětí), je potřeba uvedenou skutečnost zapsat do průvodního listu.

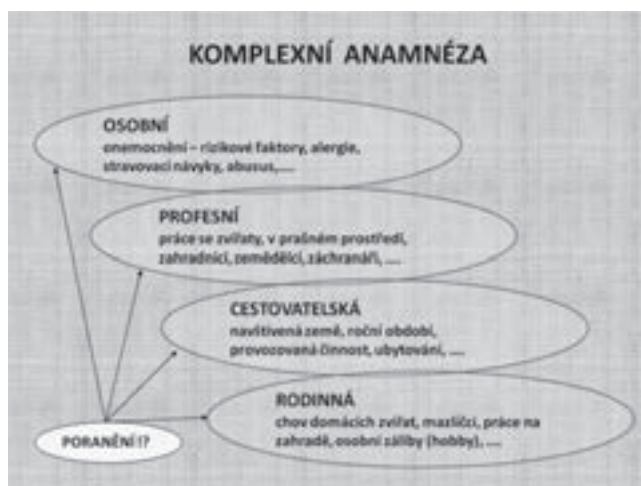
Obecně platí, že materiál je nutné odebrat sterilními nástroji do sterilních odběrových nádobek s dobře těsnícím uzávěrem, obvykle do zkumavek. Důležité je jeho dostatečné množství, které by mělo vystačit na provedení mikroskopického vyšetření a naočkování minimálně čtyř kultivačních půd. Příklady vhodných míst pro získání dermatomykologického materiálu jsou demonstrovány na obr. 2.

Jemné šupinky kůže z okrajů ložisek se odebírají nejlépe tupým skalpelem. Stejný nástroj, případně lancetu s ohnutou špičkou, lze po odstřížení distální části nehtu použít pro odběr podnehtových hyperkeratóz v případě onychomykózy. Zcela nevhodné je posílat na vyšetření odstřížené nebo celé snesené nehty. Pro odběr vlasů, vousů a chlupů je vhodná epilační pinzeta. Odebírá se zhruba 1–2 cm dlouhý úsek s folikulární částí z okraje léze, přičemž nadbytečnou část lze odstříhnout dekontaminovanými nůžkami. Při výbě-

ru vlasů pomáhá v řadě případů Woodovo světlo [9,12,13,15].

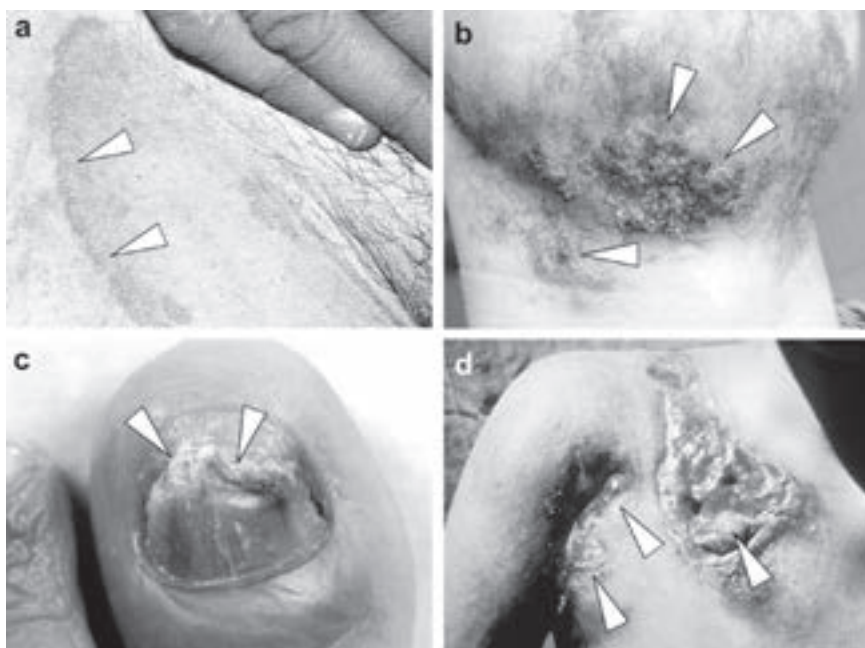
Odběr z mokvajících, případně hnisavých ložisek, kde jsou většinou etiologickým agens kandidy, se obvykle provádí pomocí suchého tampónu na plastové či dřevěné tyčince, dále je vhodné provést ještě roztěr na mikroskopické podložní sklíčko a poté vše zaslat do laboratoře [4,12]. V případě většího množství hnisu lze použít injekční stříkačku. Jedná-li se o akutní dermatofytové léze s tvorbou pustulek,

Obrázek 1
Součástí komplexní anamnézy
při dermatomykologickém vyšetření



Obrázek 2

Příklady vhodných míst pro odběr na dermatomykologické vyšetření:
a) *tinea inguinalis*, b) *tinea barbae*, c) onychomykóza,
d) subkutánní mykóza v okolí ramene



je doporučeno je ostrou očkovací jehlou nabodnout a získanou kapku materiálu okamžitě inokulovat na kultivační půdu, přičemž pravděpodobnost pozitivního nálezu je v tomto případě velmi vysoká [13].

3. Metody přímé diagnostiky

Přímé mikroskopické vyšetření dermatologických vzorků by nemělo být nikdy opomenuto, a to ani v případě, že odbírajícím klinickým lékařem bylo dodáno jen velmi málo materiálu. V případě jeho pozitivity a typického vzhledu infekčního ložiska může totiž dermatolog zahájit cílenou léčbu antimykotiky podstatně dříve, než je k dispozici výsledek kultivace. To platí zejména u *pityriasis versicolor*, onemocnění způsobeného lipofilními kvasinkami rodu *Malassezia*, kdy jsou kožní projevy a výsledek přímé mikroskopie natolik charakteristické, že obvykle není potřeba potvrzení kultivací.

Laboratorní příprava preparátu pro přímou mikroskopii vzorků je poměrně jednoduchá. Protože se jedná o hodno-

cení materiálu obsahujícího keratin, je potřeba jeho strukturu nejprve rozvolnit. K tomuto účelu se nejčastěji používá 20% roztok hydroxidu draselého (KOH). Lze jej sice v zásadě použít v rozmezí od 5 do 40 %, ale nízká koncentrace pracuje pomalu, vysoká zase příliš rychle, čímž jsou často v krátké době zničeny všechny v preparátu přítomné struktury. KOH se používá v čisté formě, s přidavkem barviva (např. bavlnová modř, chlorazolová čern, Chicago sky blue), nebo fluorochromu (např. Rylux BSU, Blankophor) [4,9,12,13,21]. Výhodou posledně zmíněných dvou variant je lepší viditelnost mikromycet, což zvyšuje pravděpodobnost jejich detekce.

Příprava klasického louhového preparátu:

Na střed mikroskopického podložního sklíčka se kápne roztok KOH (buď čistý, nebo s přidavkem barviva) a do něj se umístí částičky biologického materiálu. Tekutina se roztáhne hranou krycího sklíčka, které se pak opatrně přiklopí (aby se nevytvořily bubliny) a případně se přes jeho hranu doplní KOH tak, aby byly kousky vzorku zcela smočeny. Následně se materiál nechá 30–60 minut louhovat (doba macerace je závislá na velikosti částiček), nebo se preparát umístí do vlhké komůrky a mikroskopické vyšetření se provede následující den [12,13]. Posledně zmíněný postup lze doporučit zvláště v případě, že byl k maceraci použit louh s barvivem, neboť přítomné houbové struktury tím nabývají na kontrastu. Pozitivní výsledky jsou demonstrovány na obr. 3.

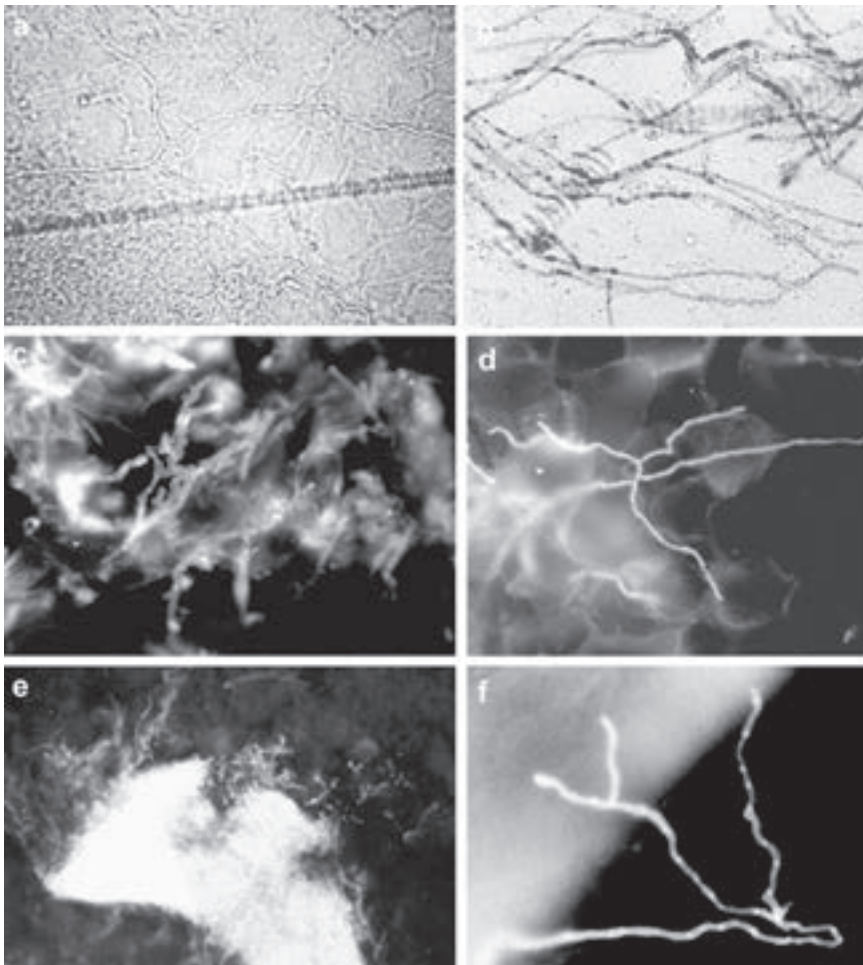
Příprava louhového preparátu pro fluorescenční mikroskopii:

Na střed mikroskopického podložního sklíčka se kápne roztok KOH s fluorochromem (např. Rylux BSU v 0,2% koncentraci) a do něj umístí částičky materiálu. Také v tomto případě je třeba, aby byly zcela smočeny. V odkryté podobě se louhuje minimálně 1 hodinu. Dochází-li k vysychání preparátu, přidává se čistý KOH, nebo se preparát umístí do vlhké komůrky. Po uplynutí doby macerace se doporučuje přebytečný louh s fluorochromem opatrně odsát a nahradit čistým. Na preparát se následně umístí krycí sklíčko a mírným tlakem na něj se pak provede rozvolnění částiček (tlakový preparát). V případě potřeby se přes jeho hranu doplňuje roztok KOH [12,13]. Pozitivní výsledky jsou demonstrovány na obr. 3.

Rychlou, přesnou a citlivou alternativu přímé mikroskopie, umožňující většinou také identifikaci houbového agens v dermatologickém materiálu, představují molekulárně genetické techniky, nejčastěji na bázi polymerázové řetězové reakce (PCR) [2,15,16]. Jejich vý-

Obrázek 3

Ukázky pozitivních výsledků přímé mikroskopie v kožních šupinách:
a) preparát s čistým KOH, b) KOH s bavlnovou modří,
c)–f) louhový preparát s fluorochromem Rylux BSU



sledky je však třeba zodpovědně interpretovat v kontextu vývoje stavu infikovaných ložisek, neboť fungální DNA z neviabilního patogenu v nich může být zjištěna i po úspěšném vyléčení, zejména v případech onychomikóz [9].

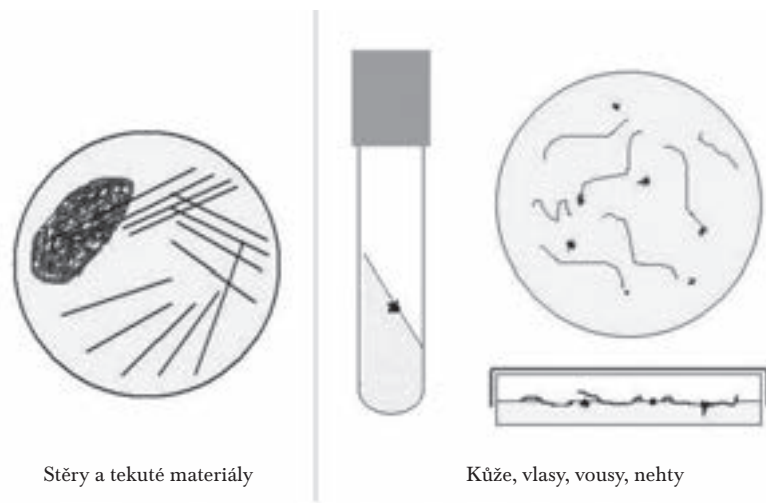
4. Kultivační postupy

Pro primární kultivaci mikroskopických hub z kůže a kožních adnex je nejvhodnější Sabouraudův agar (SA), nejčastěji v podobě selektivních půd obsahujících antibiotika (obvykle chloramfenikol) a antimykotikum cykloheximid [4,12,13]. Pro kvasinkovité mikroorganismy lze využít chromogenní půdy, jež u některých druhů na základě typického zbarvení, resp. morfologie kolonií poskytují i předběžnou identifikaci [22].

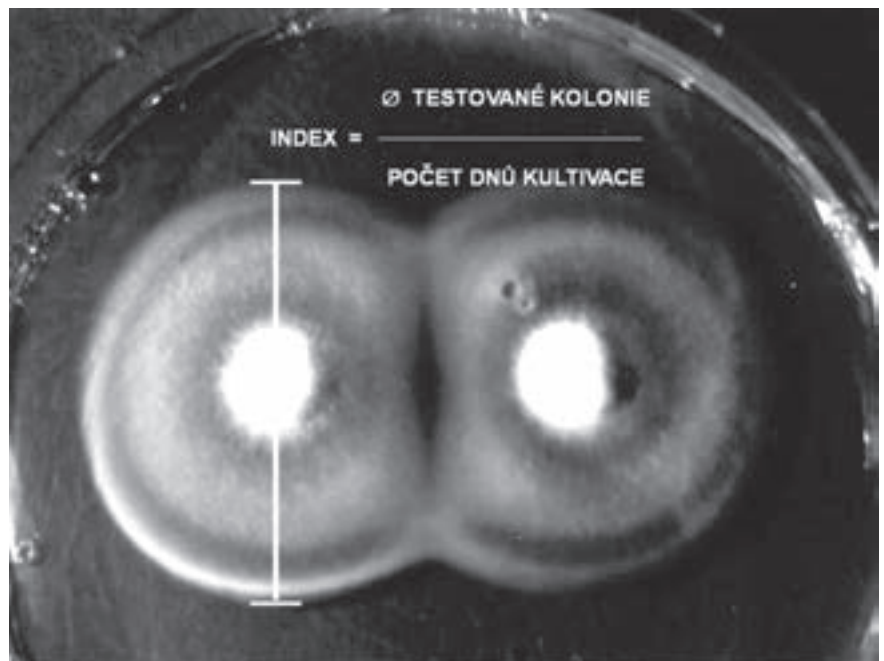
Pro inokulaci tekutých biologických vzorků a stěrů se doporučuje použití minimálně tří agarových půd v Petriho miskách, přičemž se materiál nanáší obdobným způsobem jako v bakteriologii, včetně ředícího typu rozočkování po povrchu kultivačního média, jak je demonstrováno na obr. 4.

Pro kožní šupiny a úlomky nehtů je preferováno umístování menších částek materiálu na větší počet kultivačních půd. Technologicky se jako nejvhodnější jeví vpich šupin pod povrch šikmo vylitého SA ve zkumavce, přičemž vzorek z jedné lokality by měl být inokulován minimálně na čtyři takové půdy. Doporučuje se použití buď čtyř SA pouze s chloramfenikolem, nebo jen dvou takových půd a dalších dvou s chloramfenikolem a cykloheximidem. Použití uvedeného počtu médií snižuje riziko nesprávné interpretace nálezu v souvislosti s případnou kontaminací vzorku mikroflórou ze vzduchu, resp. přímo z kožních šupin při zachování vysoké pravděpodobnosti záchytu etiologického agens. V případě, že není možné použít SA ve zkumavkách, lze akceptovat i kultivaci v Petriho miskách. Ty je naopak nejvhodnější použít v případě inokulace vlasů, vousů a chlupů, přičemž se materiál rozmístí po povrchu média a sterilní očkovací jehlou se lehce zatlačí pod jeho povrch [4,13]. Způsoby inokulace vzorků kožních šupin a adnex pro mykologickou kultivaci jsou souborně demonstrovány na obr. 4. V případě podezření na etiologickou roli lipofilních kvasinek rodu *Malassezia*, je třeba, s výjimkou druhu *M. pachydermatis*, použít SA s přídatkem olivového oleje.

Obrázek 4
Způsob inokulace dermatologických vzorků na kultivační půdy



Obrázek 5
Stanovení růstového indexu



Stanovení teploty inkubace u dermatologických vzorků vychází ze skutečnosti, že na povrchu lidské pokožky je přibližně 25 ± 2 °C. V tomto rozmezí roste většina mikromycet v morfologicky typických koloniích, což usnadňuje jejich správnou identifikaci. Určitou výjimku představuje *Trichophyton verrucosum*, které údajně roste lépe při 37 °C [9]. Přitom je třeba důrazně doporučit, aby kultivace probíhala výhradně v termostatu a nikoli volně v prostorách laboratoře, neboť v takovém případě dochází ke kolísání výše teploty během inkubace, což má na růst mikromycet nepříznivý vliv [4,13].

Časový interval od zahájení do ukončení kultivace není pevně stanoven a liší se hlavně v závislosti na očekávaném houbovém agens. Obecně se doporučuje sledovat růst mykoorganismů od 6. dne inkubace a následně jej kontrolovat vždy po čtyřech dnech. V případě dermatofytů bez znalosti epidemiologických souvislostí je doporučeno materiál kultivovat zhruba 2 týdny. Studie na 5 459 izolátech zmíněných mikromycet ukázala, že v průběhu 17denní inkubace vyrostle téměř 99 % kmenů [9]. Vyplývá-li však z anamnézy podezření na přítomnost velmi pomalu rostoucích druhů (např. *Trichophyton violaceum* a *T. verrucosum*), měl by se interval prodloužit na 3–4 týdny. Jedná-li se o kožní kandidózu nebo dermatomykózu, vyvolanou ubikvitními druhy vláknitých hub (aspergily, fuzaria apod.), postačí k typickému vzhledu kolonií 3–6 dnů. Vzhledem k tomu, že se jedná o mladé kultury, je možná jejich bližší identifikace již při zhotovení mikroskopického preparátu přímo ze zkumavky [4,12].

5. Identifikace mikromycet

V případě kultivačního záchyту houbových kolonií je potřeba provést jejich rodovou a nejlépe i druhovou identifikaci. Při sledování morfologických znaků se kombinuje hodnocení makroskopického (zejména barva kolonie, včetně spodiny a textura povrchu) a mikroskopického vzhledu (hlavně tvar, velikost a uspořádání reprodukčních útvarů). Při orientačním mikroskopickém vyšetření kultury lze pro

dermatofyty a kvasinky jako médium doporučit Lugolův roztok, nebo laktofenol s barvivem (bavlnová modř), který má delší trvanlivost [12]. Čistý laktofenol lze využít pro ostatní vláknité mikromycety, neboť zůstane zachována případná barevnost jejich mikroskopických struktur důležitých pro identifikaci, a navíc dojde i k určitému projasnění preparátu.

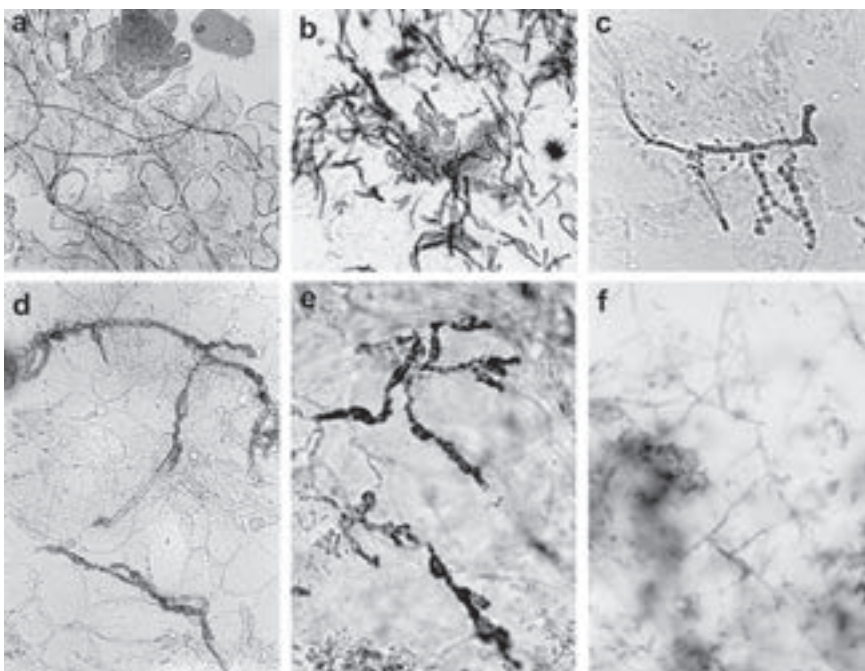
K předběžné orientační identifikaci nejčastějších druhů kvasinkovitých mikroorganismů je možné využít již zmíněné chromogenní agary. Klasickým postupem je pak kromě zhodnocení vzhledu kolonií na takové kultivační půdě i kombinace mikromorfologických znaků na nutričně chudých médiích (mycelium, pseudomycelium, chlamydospory na rýžovém či kukuřičném agaru) a biochemických testů na principu asimilace (tzv. auxanogramy) a fermentace (tzv. zymogramy) zdrojů uhlíku, případně dusíku [12]. V současné době je ale nejrychlejší a nejpřesnější metodou identifikace kvasinek v rutinní mykologické laboratoři využití hmotnostní spektrometrie typu MALDI-TOF. Ve specializovaných laboratořích je možné využít i molekulárně genetické metody.

U vláknitých mikromycet bývá postup složitější. Při identifikaci dermatofytů klasickou cestou je po zjištění anamnestických údajů a korelace s výsledkem přímé mikroskopie vhodné jako první krok zhodnotit tzv. růstový index, jak je demonstrováno na obr. 5 [13]. Následuje popis morfologie kolonií, tj. barva a textura povrchu, produkce pigmentů a charakter spodiny a okrajů. Neméně významné je hodnocení mikroskopických znaků, především produkce mikro- a/nebo makrokonidií. Posledně zmíněné charakteristiky mikroskopických hub se nejlépe pozorují v tzv. mikrokultu-
rách, které navíc umožňují postupně (v časové ose) sledovat růst mycelia a tvorbu reprodukčních útvarů. Bylo popsáno několik metodických variant. Často používaný jednoduchý postup je následující: sterilním nástrojem (skalpel, zkumavka) se vykrojí bloček SA o průměru 1 cm, umístí se na podložní sklíčko, na čtyřech protilehlých místech se naočkuje zkoumaným kmenem, překryje krycím sklíčkem a obvykle na 3–7 dní (u pomalu rostoucích hub i na delší dobu) se umístí do vlhké komůrky [12,13]. V některých laboratořích se k identifikaci určitých druhů dermatofytů používají komerční *Trichophyton* agary, ureázový test či perforace vlasu *in vitro*, názory na jejich spolehlivost se však různí [23].

Morfologické (konvenční) určování vláknitých hub je založeno na porovnávání výše uvedených znaků kultury s popisy jednotlivých druhů v mykologických příručkách, resp. odborné literatuře [13,24–26]. Lze využít i identifikačních klíčů, jsou-li dostupné [13]. Obecně však platí, že zmíněný přístup vyžaduje od hodnotitele pod-

Obrázek 6

Vzhled mycelií v přímé mikroskopii u různých agens dermatomykóz:
a) dermatofyt, b) *Malassezia* sp., c) *Candida* sp.,
d) *Scopulariopsis brevicaulis*, e) *Aspergillus* sp., f) *Acremonium* sp.



statně větší odborné zkušenosti, než je tomu v případě kvasinkovitých mikroorganismů.

Z novějších identifikačních postupů je možné, podobně jako u kvasinkovitých mikroorganismů, využít metodu MALDI-TOF [15]. Určování dermatofytů a dalších vláknitých hub je však v tomto případě komplikováno složitějším postupem přípravy vzorku a omezeným druhovým spektrem vláknitých hub v mykologické databázi přístroje [2]. Proto se doporučuje nespolehat se výhradně na uvedenou techniku, ale je vhodné ji kombinovat s klasickou morfologickou diagnostikou. Z hlediska identifikace jsou za nejpřesnější považovány metody molekulární genetiky, především na principu PCR. Při využití sekvenace DNA je nutné porovnávat získané sekvence (nejčastěji oblast ITS rDNA) s referenčními, které jsou k dispozici v databázi GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank), pomocí volně přístupného nástroje BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Dále lze využít spravované databáze, které obsahují jen sekvence, které prošly kontrolou kurátora, například ISHAM ITS Database (<http://its.mycologylab.org>) nebo Dermato-phytes Species Database na Westerdijk Fungal Biodiversity Institut (www.westerdijkinstitut.nl/Dermatophytes). Některé molekulárně genetické techniky slouží nejen k určování izolátů na úroveň druhu, ale i při jejich epidemiologické typizaci [3,15,16]. Technologicky se jedná o celou řadu přístupů, jako je konvenční, real-time, nested a multiplex PCR, kombinace PCR s ELISA či restriční analýzou a sekvenování DNA [15]. Širšímu využití těchto postupů v přímé diagnostice i při určování houbových kultur na rutinních mykologických pracovištích zatím brání především nutnost speciálního laboratorního vybavení a prostorové nároky.

6. Interpretace nálezů

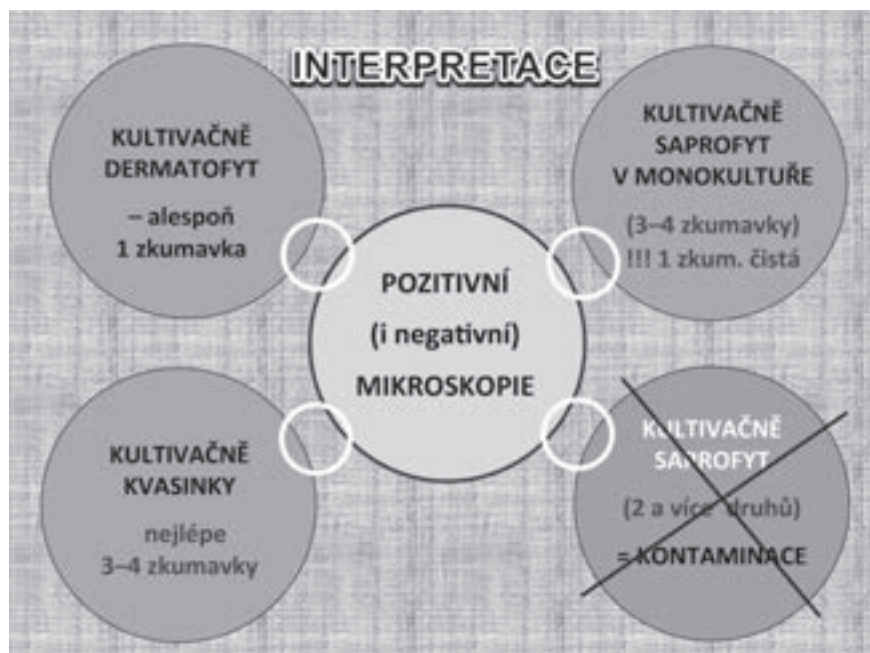
Tato část diagnostického procesu je velmi zodpovědnou činností, protože poskytuje klinickému lékaři informace, podle nichž stanoví diagnózu a terapii pacienta. Jak již bylo zmíněno, velmi důležitá je přímá mikroskopie vzorku, neboť, je-li pozitivní, je jednoznačně prokázána fyzická přítomnost houby ve tkáni. Navíc, jak je demonstrováno na obr. 6, může poskytnout i mikromorfologii, charakteristickou pro některá mykotická agens. Je-li výsledek přímé mikroskopie negativní, nejdůležitějším kritériem se stává kultivace. Při ní mohou být zachyceny nejen dermatofyty, ale i kvasinky nebo ubikvitní vláknité houby.

Způsob interpretace kultivačních nálezů v kontextu výsledku přímé mikroskopie je schematicky uveden na obr. 7.

Záchyt dermatofyta jako etiologického agens může být i ojedinělý (růst jen v jedné zkumavce), protože takový nález

Obrázek 7

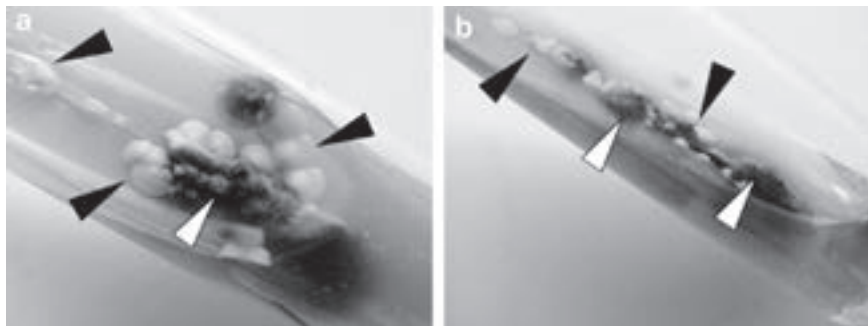
Interpretace dermatomykologických nálezů



svědčí o jeho vztahu k poškození tkáně, a to rovněž v případě negativní přímé mikroskopie. Při hodnocení role kvasinek v souvislosti s jejich pozitivním nálezem v preparátu je třeba vzít v úvahu, zda byly kultivačně prokázány masivně, tj. alespoň ve třech ze čtyř zkumavek. Vzhledem k tomu, že bývají často součástí kožního mikrobiomu, jejich ojedinělý nález by měl být hodnocen pouze jako kolonizace. Nejsou-li kvasinkové elementy přímou mikroskopii v materiálu nalezeny, interpretuje se jejich kultivační záchyt analogicky, navíc lze doporučit zhotovení nového (kontrolního) preparátu z případného zbytku biologického vzorku.

Nejobtížnější je interpretace kultivačního nálezu ubikvitních vláknitých hub (tzv. saprofytických plísní), a to při pozitivní i negativní přímé mikroskopii. V prvním případě je pro vyhodnocení etiologické role takové mikromycety nutné, aby byla zachycena v čisté kultuře a masivně, tj. ve 3–4 zkumavkách. Při kvantitativně nižším nálezem by se spíše jednalo o kontaminaci vzorku při odběru nebo zpracování v laboratoři. Pokud by bylo nutné kauzální roli takového agens potvrdit, bylo by třeba verifikovat nález opakováním celého mykologického vyšetření včetně odběru. V té souvislosti je však třeba zmínit, že klinickému lékaři postačuje k rozhodnutí o zahájení antifungální systémové léčby pouze pozitivita přímé mikroskopie. V případě její negativity a kultivačního záchytu většího počtu kolonií ubikvitní vláknité houby v čisté kultuře je interpretace ještě složitější. Může se totiž jednat o etiologické agens, ale také o masivní kontaminaci vzorku, což bývá pozorováno zvláště u vyšetření nehtů dolních končetin, kde bývá dekontaminace etanolem nespolehlivá. Za této situace lze tedy doporučit provést znova přímou mikroskopii (je-li ještě k dispozici zbytek

Obrázek 8
Smíšená mykóza *Candida parapsilosis* (černé šipky)
a *Cladosporium sphaerospermum* (bílé šipky)



materiálu), výhodnější je však dohodnout s dermatologem nový odběr vzorku z příslušné lokality a zopakovat celé mykologické vyšetření. Při kultivačním nálezu dvou, případně i více druhů ubikvitních vláknitých mikromycet v jednom vzorku současně se obvykle jedná o kontaminaci.

Záchyt dvou mikromycet v jednom vyšetřovaném vzorku však může být také projevem smíšené mykózy, kdy se uplatňují dva houbové druhy současně. I když je uvedená situace poměrně vzácná, je třeba interpretaci takového kultivačního nálezu pečlivě zvážit, protože na ní závisí rozhodnutí o zahájení léčby. Nejčastěji přichází do úvahy kombinace dvou dermatofytů, nebo kombinace těchto houbových agens s kvasinkami. Dále je možné se setkat s konkurencí kvasinkovitých mikroorganismů a ubikvitních vláknitých mikromycet, jak je demonstrováno na obr. 8. Naopak etiologický souběh posledně zmíněných hub s dermatofyty je naprostou raritou. V kterémkoli případě tohoto typu mykózy je vždy doporučena verifikace nálezu novým odběrem s kompletním mykologickým vyšetřením.

Stanovení citlivosti k antimykotikům

Obecně se testování citlivosti k systémovým antimykotikům využívá zejména v případech invazivních houbových infekcí, nereagujících na dosavadní léčbu, při podezření na získanou rezistenci, v rámci epidemiologických studií při monitorování citlivosti mikromycet na antifungální léčiva a experimentálně při hodnocení účinnosti nově vyvíjených látek. V případě dermatomykóz má terapie obvykle empirický charakter a zahajuje se většinou lokálně lékovými formami typu masť, roztoků, emulzí či laků na nehty. V takových případech nemá testování citlivosti vzhledem k nestandardnímu množství aplikovaného antimykotika smysl. Avšak zejména v případech recidivujících onychomykóz, extenzivních kožních lézí, ale i *tinea capitis*, je indikována systémová léčba, zejména terbinafinem, případně azoly (flukonazol, itrakonazol). V současnosti je dokumentován nárůst rezistence na terbinafin v důsledku mutace genu pro skvalen epoxidázu u zástupců rodu *Trichophyton*. U nejvýznamnějšího humánního druhu, *T. rubrum*, byla popsána

i rezistence k azolům na základě nové varianty ABC transportního proteinu [27–29]. Z těchto důvodů začalo testování citlivosti dermatofytů k antimykotikům *in vitro* nabývat na významu a pro mezilaboratorní porovnávání výsledků bylo třeba standardizovat technologický postup. To se podařilo Podvýboru pro testování antifungální citlivosti (AFST) Evropského výboru pro testování antimikrobiální citlivosti (EUCAST) přípravou referenční metody, obsažené v dokumentu E. Def 11.0 a vycházející z předchozích metodických standardů E. Def 7.3.2 pro kvasinkovité mikroorganismy a E. Def. 9.3.2 pro vláknité mikromycety [30]. Popsaný postup byl verifikován rozsáhlou mezinárodní studií [31].

V principu se jedná o kvantitativní mikrodiluční bujónovou metodu, kultivační médium však obsahuje navíc chloramfenikol a cykloheximid a výsledky jsou vyhodnocovány pomocí spektrofotometru. Vzhledem k tomu, že příprava destiček je technologicky a časově náročná a zatím není vyvinuta komerční alternativa, bylo by složité touto metodou testovat citlivost izolátů v běžné laboratorní praxi. Její potenciál spočívá ve využití na specializovaném pracovišti pro konfirmaci výsledků získaných jednoduššími difuzními technikami. Z nich lze z hlediska standardizace doporučit především komerčně dostupné tablety Neo-Sensitabs [32].

Závěr

Jako nepodkročitelné minimum pro laboratorní diagnostiku dermatomykóz je doporučeno:

1. Splnit všechna výše uvedená kritéria obecného postupu dermatomykologického vyšetření s důrazem na komplexní anamnézu.
2. Důsledně provádět dekontaminaci infikovaného ložiska 70% etanolem vždy před odběrem vzorku.
3. Provádět vždy přímé mikroskopické vyšetření dermatologického materiálu. Při malém množství vzorku má tato metoda přednost před kultivací.
4. Při kultivaci inokulovat malé částičky materiálu na větší počet kultivačních půd a inkubovat je ve stabilní teplotě (v termostatu).
5. Při interpretaci nálezu zachycených a identifikovaných mykotických agens pečlivě zvážit klinický kontext, tj. jejich možnou účast na infekčním procesu. Při pochybnostech konzultovat situaci s klinickým lékařem a na základě společného vyhodnocení informací se v odůvodněných případech dohodnout na opakování odběru a následně celého mykologického vyšetření.

Podpořeno grantem AZV MZ ČR č. 17-31269A.

Literatura

- Buchta V, Hamal P, Kocmanová I, Mallátová N, Mencl K., Pracovní skupina pro lékařskou mykologii SLM ČLS JEP. Nepodkročitelné minimum diagnostiky mykóz v laboratoři lékařské mykologie. Dokument SLM ČLS JEP č. NMM20110218v.1, 2011, dostupný na adrese www.splm.cz/_download/0000016e-92e9-df8d-abee-fefb6e240000
- L'Ollivier C, Ranque S. MALDI-TOF-based dermatophyte identification. *Mycopathologia*. 2017;182(1–2):183–192.
- Čmuková A, Hamal P, Svobodová L, Hubka V. Detekce, identifikace a typizace dermatofytů molekulárně genetickými metodami. *Čes-slov Derm*. 2014;89(4):175–186.
- Vosmík F, Skořepová M. Dermatomykózy: Diagnostika a terapie dermatologických mykotických infekcí. 1. vyd. Praha: Galén, 1995.
- Skořepová M. Dermatomykologie v obrazech. 1. vyd. Praha: Galén; 2008.
- Stuchlík D, Mencl K, Hubka V, Skorepova M. Fungal melanonychia caused by *Onychocola canadensis*: first records of nail infections due to *Onychocola* in the Czech Republic. *Czech Mycol*. 2011;63(1):83–91.
- 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.
- de Hoog GS, Dukik K, Monod M, et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia* 2017; 182:5–11.
- Hubka V, Větrovský T, Dobiášová S, et al. Molekulární epidemiologie dermatofytóz v České republice – výsledky dvouleté studie. *Čes-slov Derm*. 2014;89(4):167–174.
- Hubka V, Čmuková A, Peano A, et al. Zoonotické dermatofytózy: klinický obraz, diagnostika, etiologie, léčba, epidemiologická situace u nás. *Čes-slov Derm*. 2018;93(6):205–292.
- Mencl K, Buchta V, Mallátová N, Hamal P, Kocmanová I, Hubka V, Pracovní skupina pro lékařskou mykologii SLM ČLS JEP. Doporučený postup laboratorní diagnostiky u dermatomykóz. Dokument SLM ČLS JEP, verze 00 k oponentuře, 2020, dostupný na adrese www.splm.cz/_download/00000172-e0c9-d3b6-a7fe-f5fb46b80000
- Ůtčenášek M. a kol. Vyšetřovací metody při mykotických onemocněních. In: Schindler J, Tíháček B, Potužník V. (eds.) Mikrobiologické vyšetřovací metody, Praha: Avicenum; 1990. sv. 12.
- Fragner P, Hejtmánek M. Určování dermatofytů. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci; 1990.
- Mycology and antifungal susceptibility testing. In: Leber AL. (ed.) Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th ed., vol. 2. Washington DC: ASM Press; 2016.
- Rudramurthy SM, Shaw D. Overview and update on the laboratory diagnosis of dermatophytosis. *Clin Dermatol Rev*. 2017;1:S3–S11.
- Begum J, Mir NA, Lingaraju MC, Buyamayum B, Dev K. Recent advances in diagnosis of dermatophytosis. *J Basic Microbiol*. 2020; 60:293–303.
- Skořepová M. Dermatomykózy – etiologie a diagnostika. *Interní Med*. 2003;5(10):6–7.
- Janatová H. Trichophytia profunda jako onemocnění z povolání u imunosuprimovaného pacienta. *Čes-slov Derm*. 2016;91(3):129–131.
- Paryuni AD, Indarjulianto S, Widyaningrum S. Dermatophytosis in companion animals: A review. *Vet World*. 2020;13(6):1174–1181.
- Chermette R, Ferreira L, Guillot J. Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia*. 2008;166:385–405.
- Baddireddy K, Poojary S. A novel contrast stain for the rapid diagnosis of dermatophytoses: a cross-sectional comparative study of Chicago Sky Blue 6B stain, potassium hydroxide mount and culture. *Indian J Dermatol*. 2019;64(4):311–314.
- Ghelardi E, Pichierrri G, Castagna B, et al. Efficacy of Chromogenic Candida Agar for isolation and presumptive identification of pathogenic yeast species. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(2):141–147.
- Carter GR. 29 – Dermatophytes and dermatophytoses. In: Carter GR, Cole JR (eds.) Diagnostic procedure in veterinary bacteriology and mycology, 5th ed., Cambridge (MA): Academic Press; 1990. pp. 381–404.
- Larone DH. Medically important fungi: A guide to identification. 6th ed. Washington DC: ASM Press; 2018.
- Campbell CK, Johnson EM, Warnock DW (ed.) Identification of Pathogenic Fungi. 2nd ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2013.
- de Hoog GS, Guarro J, Gené J, Ahmed S, Al-Hatmi AMS, Figueras MJ, Vitale RG. Atlas of Clinical Fungi. 3rd ed. Utrecht/Reus: Stichting Foundation Atlas of Clinical Fungi; 2019.
- Monod M. Antifungal resistance in dermatophytes: emerging problem and challenge for medical community. *J Mycol Med*. 2019;29:283–284.
- Yamada T, Maeda M, Alshahni MM, et al. Terbinafine resistance in *Trichophyton* clinical isolates caused by specific point mutations in the squalene epoxidase gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61:1–13.
- Monod M, Feuermann M, Salamin K, et al. *Trichophyton rubrum* azole resistance mediated by a new ABC transporter, TruMDR3. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63:1–19.
- Arendrup MC, Kahlmeter G, Guinea J, et al. How to perform antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes following the new reference EUCAST method E.Def 11.0, exemplified by *Trichophyton*. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(1):55–60.
- Arendrup MC, Jørgensen KM, Guinea J, et al. Multicentre validation of a EUCAST method for the antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(7): 1807–1819.
- Esteban A, Abarca ML, Cabañes FJ. Comparison of disk diffusion method and broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. *Med Mycol*. 2005;43(1):61–66.

Sentinelová studie výskytu chřipky v ÚVN Praha v sezóně 2020/2021

E. BARTÁKOVÁ^{1,2}, M. HOLUB², M. ČURDOVÁ¹

¹Oddělení klinické mikrobiologie, ÚVN Praha; ²Klinika infekčních nemocí, 1. LF UK a ÚVN Praha

Chřipka je akutní virové onemocnění, způsobené nejčastěji virem chřipky typu A či B. Nákaza virem chřipky má sezónní charakter, její aktivita je hlášena v zimních měsících s kul-

minací v lednu a únoru na severní polokouli. Onemocnění probíhá pod obrazem středně těžké až těžké respirační infekce a nezřídka vede k hospitalizaci nemocného. Chřipka ročně postihuje v České republice statisíce lidí a vede v průměru ke dvěma tisícům úmrtí. Onemocnění chřipkou je preventabilní každoroční vakcinací a k dispozici je i specifická léčba.

Tabulka 1
Sledování výskytu chřipky v období 2. 2. až 4. 3. 2021

	Počet	%
celkem pacientů	152	
muži/ženy	76/76	50
průměrný věk (roky)	70,7	
nutnost hospitalizace	107	70,4
žadatel		
Emergency	133	87,5
Infekční klinika	19	15,5
příznaky	91	59,9
zvýšená teplota	57	37,5
kašel	51	33,6
dušnost	47	30,9
cefalea	8	5,3
myalgie	8	5,3
artralgie	9	5,9
ztráta čichu	4	2,6
ztráta chuti	1	0,7
dyspepsie	12	7,9
vyšetření		
Influenza A		
celkem	152	
pozitivní	0	0
Influenza B		
celkem	152	
pozitivní	0	0
hRSV		
celkem	152	
pozitivní	0	0
SARS-CoV-2		
celkem	152	
pozitivní	69	45,4

hRSV – human respiratory syncytial virus

SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

Letošní chřipková sezóna je významně ovlivněna probíhající pandemií vyvolanou novým typem koronaviru SARS-CoV-2, který vyvolává koronavirové onemocnění covid-19. Přes probíhající pandemii covid-19 je v Evropě hlášen mezisezónní výskyt chřipky, přičemž za 9. týden sezóny v rámci sentinelového vyšetření byly zachyceny tři případy chřipky z celkem 1 045 vyšetřených vzorků a dále byly zjištěny dva případy hospitalizace s potvrzenou chřipkou.

S ohledem na tento stav jsme provedli vlastní sentinelovou studii u pacientů s příznaky respiračního onemocnění vyšetřených na Oddělení urgentního příjmu (Emergency) ÚVN a akutní ambulanci Kliniky infekčních nemocí, 1. LF UK a ÚVN. U vybraných pacientů, kteří byli indikováni k vyšetření na přítomnost viru SARS-CoV-2, bylo zároveň provedeno vyšetření na přítomnost viru chřipky typu A či B a lidského respiračního syncytiálního viru (hRSV). Pacientům byl proveden nasopharyngeální výtěr a materiál byl následně vyšetřen v laboratořích Oddělení klinické mikrobiologie ÚVN. Detekce sledovaných virů byla provedena pomocí přímého průkazu virové RNA polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) s využitím systému GeneXpert s použitím kazety Xpert®Xpress Flu/RSV pro průkaz virů chřipky A a B a hRSV (lidský respiračně-syncytiální virus) a kazety Xpert Xpress SARS-CoV-2 (vše Cepheid, USA). Vyšetření se provádí ve statimovém režimu a jeho výsledek je pro spolupracující klinická pracoviště dostupný do dvou hodin od odběru vzorku.

V období 2. 2. až 4. 3. 2021 byly celkem vyšetřeny vzorky od 152 pacientů. Jednalo se převážně o pacienty ošetřené na oddělení Emergency a více jak dvě třetiny případů bylo nutné přijmout k hospitalizaci. Demografické a klinické charakteristiky souboru pacientů a podrobné výsledky vyšetření jsou uvedeny v *tabulce 1*.

Ve sledovaném období nebyl na našem pracovišti prokázán jediný případ nákazy virem chřipky A, B či hRSV. Naše výsledky jsou v souladu s celoevropským pozorováním dominance výskytu SARS-CoV-2 při probíhající pandemii onemocnění covid-19 a současně sporadickém výskytu infekcí vyvolaných virem chřipky a hRSV.

Děkujeme za spolupráci pracovníkům oddělení Emergency a Kliniky infekčních nemocí.

Práce byla podpořena projektem SVV 260520.

Vyhlášení soutěže o nejlepší publikaci v oboru lékařská mikrobiologie za rok 2020

Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP (dále jen SLM) vyhlašuje soutěž o cenu za nejlepší publikaci v lékařské mikrobiologii v následujících kategoriích:

- a) studenti v doktorském studijním programu,
- b) vysokoškolští pracovníci do 35 let věku,
- c) vysokoškolští pracovníci nad 35 let věku.

Cena SLM je určena autorům publikací zaměřených na lékařskou mikrobiologii. Forma publikací je definována následujícími body:

- a) původní vědecká publikace,
- b) přehledné sdělení,
- c) monografie,
- d) kapitola v monografii,
- e) skripta.

Veškeré informace o soutěži jsou uvedeny na webových stránkách SLM (viz <https://www.splm.cz/>).

Podmínky pro udělení ceny jsou následující:

- a) členství uchazeče v SLM,
- b) uchazeč musí být hlavním nebo korespondujícím autorem,
- c) původní vědecká publikace, přehledné sdělení, kapitola v monografii, monografie či skripta musí být uveřejněny/vydány v období 1. 1. 2020 až 31. 12. 2020,
- d) uchazeč musí vyplnit příslušnou přihlášku do soutěže, která je k dispozici na výše uvedeném webovém odkazu, a odeslat ji spolu s kopií publikace, sdělení, kapitoly v monografii, v případě monografie nebo skript se požaduje jeden výtisk, do 31. května 2021 na adresu:

Romana Laušerová
Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha

V Praze dne 25. ledna 2021

prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.
předseda SLM ČLS JEP

prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
vědecký sekretář SLM ČLS JEP

Statut ceny za nejlepší publikaci v oboru lékařská mikrobiologie

Článek 1 Obecná ustanovení

1. Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP (dále jen SLM) vyhlašuje každý kalendářní rok soutěž o cenu za nejlepší publikaci v lékařské mikrobiologii (dále jen cena) v následujících kategoriích:
 - a) studenti v doktorském studijním programu,
 - b) vysokoškolští pracovníci do 35 let věku,
 - c) vysokoškolští pracovníci nad 35 let věku.

Článek 2 Vyhlášení soutěže

1. Soutěž je vyhlašována po schválení výborem SLM, a to na základě hlasování aklamací většinou všech členů výboru.
2. Výbor SLM má právo vyhlásit soutěž ve všech třech, dvou i jedné kategorii podle čl. 1.
3. Vyhlášení soutěže je doplněno určením kalendářního roku, za který je cena udělována.
4. Součástí vyhlášení soutěže je uveřejnění přihlášky a podmínek pro přihlášení.

Článek 3 Formy publikací

1. Cena SLM je určena autorům publikací zaměřených na lékařskou mikrobiologii.
2. Forma publikací je definována následovně:
 - a) původní vědecká publikace,
 - b) přehledné sdělení,
 - c) monografie,
 - d) kapitola v monografii,
 - e) skripta.

Článek 4 Podmínky pro udělení ceny

1. Uchazeč musí být prvním nebo korespondujícím autorem.
2. Původní či přehledná vědecká publikace musí být uveřejněna ve stanoveném období podle článku 2, bod 3.
3. Uchazeč o cenu musí vyplnit příslušnou přihlášku do soutěže a odeslat ji spolu s kopií přehledné či původní publikace, kapitoly v monografii nebo s celou monografií či celými skripty do požadovaného termínu na adresu definovanou podle článku 2, bod 4.
4. Přihlášku a příslušnou publikaci lze poslat i elektronicky na e-mailovou adresu definovanou podle článku 2, bod 4.
5. Podmínkou pro udělení ceny je členství v SLM.

Článek 5 Vyhodnocení soutěže

1. Vyhodnocení soutěže je realizováno výborem SLM, který posoudí všechny přihlášené původní a přehledné publikace, kapitoly v monografiích nebo monografie či skripta, a na základě hlasování aklamací většinou všech členů výboru rozhodne o udělení ceny.
2. Výbor SLM má právo cenu v dané kategorii neudělit.
3. Výbor SLM má právo v dané kategorii udělit více cen.
4. Výsledky soutěže (kategorie, autor/autorský tým, název práce) budou zveřejněny na webových stránkách a seminářích SLM.

V Olomouci dne 25. ledna 2021

prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.
předseda SLM ČLS JEP

prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
vědecký sekretář SLM ČLS JEP

Obsah 26. ročníku

M. Kolář – úvodník	3
M. Htoutou Sedláková, K. Fišerová, M. Kolář: Původci bakteriemií ve Fakultní nemocnici Olomouc	4
J. Skoupá, K. Švecová, S. Snopková: Analýza nákladové efektivity pre-expoziční profylaxe infekce HIV u vysoce rizikové populace v podmínkách České republiky	18
R. Šín, D. Sedláček, S. Hofman: Příznaky a komplikace chřipky A u seniorů v sezóně 2018–2019	25
P. Ježek, R. Šafránková, L. Mališová: Naše zkušenosti s <i>Actinomyces urogenitalis</i> v humánním klinickém materiálu	12
D. Sedláček, L. Petroušová, K. Labská, S. Hofman: Doporučený postup prevence a léčby onemocnění vyvolaných virem varicely a zosteru (VZV) u osob s imunodeficity	30
M. Kolář: Vyhlášení výsledků soutěže o nejlepší články v roce 2019	37
Obsah 25. ročníku	38
Rejstřík 25. ročníku	39
J. Bardoň – úvodník	43
R. Homolová, K. Bogdanová, J. Bardoň, M. Kolář: Přímá identifikace bakterií v hemokulturách pomocí metody MALDI-TOF MS	45
O. Zahornacký, M. Novotný: Dalbavancín a jeho využití v léčbě flegmóny horní končetiny vyvolané meticilín rezistentním <i>Staphylococcus aureus</i>	51
R. Dobiáš, V. Havlíček: Chromoblastomykózy a feohyfoomykózy, výskyt opomíjených mykotických onemocnění	54
R. Dobiáš, V. Havlíček: Terapie chromoblastomykózy a feohyfoomykózy	62
R. Dobiáš, V. Havlíček: Chromoblastomykózy a feohyfoomykózy – patogeneze a laboratorní diagnostika	69
L. Rožnovský – úvodník	79
L. Petroušová, S. da Silva, L. Rožnovský, I. Martinková: Klinický průběh první vlny epidemie nové koronavirové infekce v Ostravě	80
V. Kubíčková, K. Urbánek: Farmakokinetika a terapeutické monitorování piperacilin/tazobaktamu	86
L. Rožnovský, J. Mrázek, L. Petroušová, I. Orságová, L. Kabieszová, M. Konečná, A. Kloudová: Opakovaná protivirová léčba chronické hepatitidy C – dvě kazuistiky	96
P. Ježek, R. Šafránková, L. Mališová: Neobvyklé mikrobiologické nálezy v případech bakteriemií – tři kazuistiky	106
M. Trojánec, V. Grebenyuk, J. Lhořan, N. Sojková, L. Richterová, H. Roháčová, F. Stejskal: První případ křovinného tyfu diagnostikovaný u českého cestovatele	99
L. Rožnovský: Vzpomínka na přednostu MUDr. Pavla Herziga	111
M. Kolář – slovo šéfredaktora	115
R. Kula – úvodník: Antibiotika u kriticky nemocných – musíme ujit ještě dlouhou cestu	116
R. Kula: Druhá strana mince antibiotické léčby u kriticky nemocných	118
K. Galková: Dávkování antibiotik – čím sa riadiť?	122
M. Káňová: Délka léčby antibiotiky – jak ji zkrátit?	128
J. Chvojka: Antibiotiky indukovaná orgánová dysfunkce u pacientů v intenzivní péči	134
J. Sagan: Drug repositioning – antibiotika jako cytostatika	138

Rejstřík 26. ročníku

- Actinomyces urogenitalis* 1/12
 analýza nákladové efektivity 1/18
 antibiotic stewardship 1/4
 antibiotická léčba 4/116, 4/118
 antibiotika 4/116, 4/118, 4/122, 4/128, 4/134, 4/138
 antifungální látky 2/62
 antimykotická terapie 2/62
 antivirotika 1/30
 β -laktamová antibiotika 3/86
 bakteriémie 1/4, 3/106
 bakteriální rezistence 4/128, 4/134
 biomarkery 4/128
 cestovní medicína 3/99
 citlivost k antibiotikům 1/12
 citlivost k antimykotikům 2/62
 covid-19 3/80
 cytostatika 4/138
 dalbavancin 2/51
 dávkování antibiotik 4/116, 4/122
 deescalace antibiotik 4/128
 délka antibiotické expozice 4/118
 drug repositioning 4/138
 emtricitabin 1/18
 evidence based medicine 4/116
 exantém 3/99
 extraurogenitální infekce 1/12
Facklamia hominis 3/106
 farmakodynamika antibiotik 4/122
 farmakokinetika 3/86
 farmakokinetika antibiotik 4/122
 feohyfoomykóza 2/54, 2/62, 2/69
 flegmóna 2/51
 hemokultura 1/4, 2/45
 herpes zoster 1/30
 HIV 1/18
 horečka 1/25, 3/99
 HPLC 3/86
 humánní klinický materiál 1/12
 chromoblastomykóza 2/54, 2/62, 2/69
 chronická hepatitida C 3/96
 chřipka 1/25
 chřipka u seniorů 1/25
 imunodeficit 1/30
 incidence 2/54
 infekce 2/45
 iniciální dávka antibiotik 4/122
 kašel 1/25
 klinický průběh covid-19 3/80
 komplikace u chřipky 1/25
 kontinuální infuze 3/86
 křovinný tyfus 3/99
 laboratorní diagnostika 2/69
 léčba antibiotiky 4/128
 léčba covid-19 3/80
 léčba hepatitidy C 3/96
 MALDI-TOF MS 2/45
 mikrobiologická diagnostika 1/12
 mitochondriální dysfunkce 4/118
 MRSA 2/51
 multiorgánová dysfunkce 4/134
 multiorgánové selhání 4/118
 muriformní buňky 2/69
 mykologická diagnostika 2/69
 mykotické onemocnění 2/54
 nádorová onemocnění 4/118
 nasycovací dávka antibiotik 4/118
 nežádoucí účinky antibiotik 4/138
 nozokomiální infekce 2/51
Orientia tsutsugamushi 3/99
 oxidativní stres 4/118
 patogeneze mykotických onemocnění 2/69
 piperacilin/tazobaktam 3/86
 PK/PD 3/86
 pneumonie 3/80
 pre-expoziční profylaxe 1/18
 protivirová léčba 3/96
 přímá identifikace bakterií 2/45
 příznaky chřipky 1/25
Psychrobacter sanguinis 3/106
 původci bakteriemií 1/4
 renální substituční terapie 3/86
 rezistence 1/4, 2/51
 rickettsiózy 3/99
 sepse 4/118, 4/122, 4/134, 3/86
Staphylococcus aureus 2/51
Stenotrophomonas acidaminiphila 3/106
 TDM 3/86
 tenofovir disoproxyl fumarát 1/18
 tmavě pigmentované houby 2/54
 varicela 1/30
 virulence 2/69
 zkrácení antibiotické terapie 4/128