

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2018

Michal Kašpar

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Kvasinkové infekce u imunosuprimovaných pacientů

Michal Kašpar

Bakalářská práce

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Michal Kašpar**
Osobní číslo: **C15220**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Kvasinkové infekce u imunosuprimovaných pacientů**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracujte literární rešerši na dané téma.
2. V rešerši se zaměřte na nejčastější kvasinky vyskytující se v klinickém materiálu.
3. Popište původce závažných kvasinkových onemocnění u imunosuprimovaných pacientů.
4. Zaměřte se na rychlou diagnostiku kvasinkových patogenů a na zjištění antibiotické citlivosti u těchto mikroorganismů.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Iveta Brožková, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **27. listopadu 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 30. 6. 2018

Kašpar Michal

Poděkování:

Rád bych poděkoval vedoucí mé bakalářské práce paní Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D. za její cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích a vypracování bakalářské práce.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá ve stručnosti základní charakteristikou kvasinek. V další části jsou podrobně popsány jednotlivé rody patogenních kvasinek. Třetí část je věnována hlavním příčinám kvasinkové infekce, zejména ve spojitosti s imunosuprimovanými pacienty. V předposlední části jsou popsány nejznámější antimykotika. Poslední část představuje jednak základní, ale také novější laboratorní metody pro identifikaci kvasinek.

KLÍČOVÁ SLOVA

Kvasinky, infekce, antimykotika, imunosuprese, diagnostika

TITLE

Yeast infections in immunosuppressed patients

ANNOTATION

Bachelor thesis deals in brief with the basic characteristics of the yeast. In the next part are described in detail the individual genera of pathogenic yeasts. The third part deals with the main causes of yeast infection, especially in connection with immunosuppressed patients. The fourth part describes the most famous antimycotics. The last part presents basic but also newer laboratory methods for the identification of yeasts.

KEYWORDS

Yeast, infection, antimycotics, immunosuppression, diagnosis

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK	12
ÚVOD	14
1 KVASINKY	15
1.1 Historie.....	15
1.2 Kvasinky obecně.....	15
1.3 Tvorba biofilmu	16
1.4 Metabolismus kvasinek.....	16
1.5 Polymorfismus kvasinek.....	16
1.6 Rozmnožování kvasinek	17
1.6.1 Pohlavní rozmnožování	17
1.6.2 Nepohlavní rozmnožování	18
2 PATOGENNÍ ZÁSTUPCI KVASINEK	19
2.1 Rod <i>Candida</i>	19
2.1.1 Makroskopické a mikroskopické znaky	19
2.1.2 Rezistence vůči antimykotikům.....	19
2.1.3 Faktory virulence	20
2.2 Rod <i>Cryptococcus</i>	20
2.2.1 Faktory virulence	21
2.3 Rod <i>Trichosporon</i>	21
2.4 Rod <i>Malassezia</i>	22
2.5 Rod <i>Rhodotorula</i>	23
3 PŘÍČINY KVASINKOVÉ INFEKCE	24
3.1 Užívání antibiotik a kortikosteroidů	24
3.2 Těhotenství a perorální antikoncepce	24
3.3 Diabetes mellitus.....	25
3.4 Strava s vysokým obsahem sacharidů	25

3.5 Chemoterapie a radioterapie	26
3.6 Poškození imunitního systému	26
4 ANTIMYKOTIKA	28
4.1 Imidazolová antimykotika	28
4.1.1 Ketokonazol	28
4.1.2 Klotrimazol	28
4.1.3 Mikonazol	29
4.1.4 Econazol.....	29
4.2 Triazolová antimykotika	29
4.2.1 Terkonazol	30
4.2.2 Flukonazol	30
4.2.3 Vorikonazol	30
4.3 Polyenová antimykotika	31
4.3.1 Amfotericin B	31
4.3.2 Nystatin	31
4.4 Echinokandiny	32
5 DIAGNOSTIKA.....	33
5.1 Diagnostika onemocnění spojených s místem vzniku infekce	33
5.1.1 Infekce centrální nervové soustavy.....	33
5.1.2 Orální infekce	33
5.1.3 Vaginální infekce	34
5.1.4 Infekce močových cest.....	34
5.1.5 Infekce kůže	34
5.2 Diagnostika kvasinkových infekcí dle metod	34
5.2.1 Diagnostika kvasinek založená na detekci mananu	35
5.2.2 Diagnostika kvasinek založená na detekci 1,3-β-D-glukanu.....	35
5.2.3 Kultivace na půdách.....	36

5.2.4 Molekulární metody.....	36
5.2.5 Mikroskopie	37
5.2.6 Hmotnostní spektrometrie.....	37
5.2.7 Biochemické testy.....	38
ZÁVĚR	39
ZDROJE.....	40

SEZNAM ZKRATEK

AIDS – syndrom získaného selhání imunity

ATP – adenosintrifosfát

BG – 1,3- β -D-glukan

C. – *Candida*

CNS – centrální nervová soustava

CO₂ – oxid uhličitý

Cr. – *Cryptococcus*

CT – chemoterapie

CYP51 – cytochrom P450 rodiny 51

DNA – deoxyribonukleová kyselina

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay – enzymoimunoanalýza

H⁺ – vodíkový kationt

HIV – virus lidské imunitní nedostatečnosti

HSCT – transplantace krvetvorné kmenové buňky

IgG – imunoglobulin G

IL-17 – interleukin 17

IL-6 – interleukin 6

ITS2 – internal transcribed spacer 2

KOH – hydroxid draselný

LYS1 – sacharopin dehydrogenáza

LYS5 – fosfopantetheinyl transferáza

M. – *Malassezia*

MALDI-TOF MS – hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem

NH₃ – amoniak

PAS – periodic acid Schiff – metoda periodického okyselení

PCR – polymerázová řetězová reakce

R. – *Rhodotorula*

RIA – radioimunoassay – radioimunoanalýza

RNA – ribonukleová kyselina

rRNA – ribozomální RNA

RT – radioterapie

SDA – Sabouraudův glukózový agar

T. – *Trichosporon*

Th1 – T pomocný lymfocyt 1

Th17 – T pomocný lymfocyt 17

USA – Spojené státy americké

ÚVOD

Kvasinky jsou eukaryotické mikroorganismy, které jsou známy především pro svou schopnost fermentovat sacharidy, díky čemuž mají široké využití v potravinářském průmyslu. Přes jejich pozitivní přínos pro lidskou populaci, existují i patogenní kvasinky. Některé z nich mohou být původci závažných onemocnění, především u imunosuprimovaných pacientů. S tímto faktem přišel John W. Rippon v roce 1987 a od té doby nastal zvýšený zájem o tyto patogeny. Mezi patogenní kvasinky patří rody *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia* a *Rhodotorula*. Vůbec nejvíce izolovanou kvasinkou z klinického materiálu je *Candida albicans*, původce infekčního onemocnění, které je známo jako kandidóza. Ostatní rody mohou způsobovat především infekce kůže, centrální nervové soustavy, pohlavních orgánů, trávicí soustavy a močových cest. Léčba těchto patogenů začíná včasnou diagnostikou. Mezi klasické metody patří mikroskopie, identifikace na základě biochemických testů a kultivace. Tyto metody jsou však postupně vytlačovány novými, efektivnějšími, a především rychlejšími metodami, jako je PCR či MALDI-TOF MS. Samotná léčba se provádí látkami, které souhrně označujeme jako antimykotika. Mezi nejznámější antimykotika řadíme skupiny triazolů, imidazolů, polyenů a poměrně novou skupinu antimykotik, kterou označujeme jako echinokandiny. V dnešní době je spektrum těchto látek opravdu široké. I přes tento fakt, neexistuje žádné univerzální antimykotikum, které by spolehlivě potlačilo množení a patogenezí kvasinek. Hlavním problémem léčby je rezistence jednotlivých druhů proti různým antimykotikům, a proto je třeba používat specifická antimykotika pro daný druh kvasinky. Menším, ale neméně významným problémem je možná toxicita těchto látek. Tato práce se zabývá základní charakteristikou kvasinek, popisem jednotlivých patogenních druhů kvasinek, příčinami vzniku kvasinkové infekce, popisem základních antimykotik a možnostmi diagnostiky infekce těmito patogeny.

1 KVASINKY

1.1 Historie

Objevení kvasinek člověkem začíná již několik tisíc let před naším letopočtem. Kvasinky se tehdy využívaly hlavně pro výrobu kvašených nápojů. V roce 1857 Louis Pasteur objevil schopnost fermentace sacharidů pomocí kvasinek na oxid uhličitý a ethanol (Barnett, 2000). Co se týče infekcí, které kvasinky způsobovaly, tak tato problematika byla v historii velmi zanedbávána a teprve okolo padesátých let minulého století, se zvýšil zájem o tyto patogeny (Homei a Worboys, 2013). Velký průlom nastal v roce 1987, kdy přední americký mykolog John W. Rippon poukázal na fakt, že patogenní kvasinky a jiné houby jsou všudypřítomné a mohou způsobovat závažná onemocnění, zejména u imunosuprimovaných pacientů. Řada vědců pak potvrdila a souhlasila s tvrzením, že kvasinky mohou za většinu závažných onemocnění, která se objevila s příchodem nových metod léčby rakoviny a transplantací orgánů (Rippon, 1987).

1.2 Kvasinky obecně

Kvasinky se řadí mezi eukaryotní, heterotrofní a jednobuněčné organismy, patřící mezi houby. Název kvasinky byl odvozen od schopnosti zkvašovat některé druhy sacharidů za vzniku ethanolu a oxidu uhličitého. Díky tomu mají veliké využití v potravinářském průmyslu. Některé z nich jsou však původci závažných onemocnění, zejména ve vztahu k oslabené imunitě. Vzhledem ke své velikosti jsou jednotlivé buňky pozorovatelné pouze pod mikroskopem. V přírodě je nalézáme v prostředí se zvýšeným obsahem sacharidů (okolo rostlin, ovoce), dále v půdě a také v symbióze s řadou živých organismů (Kopecká a kol., 2012).

Velikost jedné buňky kvasinek se pohybuje od 3 do 15 μm a mohou nabývat různých tvarů od kulovitého po válcovitý. Jakožto eukaryotní buňky, vykazují kvasinky většinu znaků ideální buňky, proto se také využívají pro různé vědecké účely. Buňka obsahuje buněčnou stěnu (ta je na rozdíl od bakteriálních buněk pevná a elastická), cytoplazmatickou membránu, cytoplazmu a její organely jako endoplazmatické retikulum, Golgiho aparát, mitochondrie, vakuoly a samozřejmě jádro (Kopecká a kol., 2012). Voda tvoří hlavní složku kvasinkových buněk, sušina je složena z dusíkatých látek, sacharidů, lipidů, minerálů a vitamínů (Bendová a Kahler, 1981).

1.3 Tvorba biofilmu

Definici biofilmu navrhli Donlan a Costerton (2002). Zralý biofilm je společenství mikroorganismů, které jsou nevratně připojeny k povrchu, obsahující exopolymerní matici a vykazují výrazné fenotypové vlastnosti (Donlan a Costerton, 2002). Tvorba biofilmu je zahájena adhezí na pevnou látku (povrch) a pozorujeme ji zejména u rodu *Candida* a *Cryptococcus*. Takové buňky se pak rozdělí a tvoří bazální struktury (basal polylayers), z nichž rostou pseudohyfy a hyfy. Zralý biofilm se tak skládá ze dvou složek. Bazální vrstvy buněk, která ukotvuje biofilm na nosič a horní vrstvy, kterou tvoří hyfy, které zde ukládají extracelulární materiál biofilmu (Palková a Váchová, 2016).

Cryptococcus je známý tvorbou kapsule, která může produkovat látky, které blokují adhezi, a tedy i tvorbu biofilmu (Casadavall a Martinez, 2015). Biofilm významně ovlivňuje rezistenci proti různým antimykotikům (např. amfotericin B a azoly) (Blankenship a Aaron, 2006).

1.4 Metabolismus kvasinek

Metabolismus je soustava látkových přeměn, které probíhají uvnitř kvasinek, tak i v okolí, ve kterém se vyskytují. Kvasinky se řadí mezi mikroorganismy, a tak i pro ně je typická vysoká intenzita metabolismu. Metabolismus lze ovlivnit vnějšími podmínkami, jako je přísun živin, pH, aerobní či anaerobní prostředí a teplota. Hlavním zdrojem uhlíku jsou pro kvasinky sacharidy. Kvasinky však využívají další látky jako zdroj uhlíku, např. alkoholy (glycerol, methanol, ethanol), laktát a další. Tyto látky pak za aerobních podmínek vstupují do glykolýzy, na kterou navazuje Krebsův cyklus. Produkty metabolismu kvasinek jsou CO₂, ethanol, H⁺, glycerol, acetát, sukcinát (Kopecká a kol., 2012). Dle metabolismu se kvasinky identifikují dle biochemických testů (auxanogramy a zymogramy) (Otčenášeka kol., 1990).

1.5 Polymorfismus kvasinek

Patogenní kvasinky mají tři základní morfologické formy, a to kvasinkové buňky, hyfy a pseudohyfy. Přechod mezi kvasinkovou formou a hyfou je velice důležitý pro virulenci. O stádiu pseudohyfy a reakci imunitního systému na ně, je známo podstatně méně než u prvních dvou stádií (Mukaremera a kol., 2017).

V kvasinkovém stádiu mají buňky většinou oválný tvar, ve stádiu hyfy a pseudohyfy mají tvar protáhlý a vláknitý. Jednotlivé buňky pseudohyf jsou elipsoidního tvaru a mají patrné zúženiny mezi jednotlivými buňkami (Sudbery a kol., 2004), naopak ve stádiu hyfy mají stejný poměr velikostí stran, a navíc postrádají zúžení v septech. Hyfy mají navíc póry

v septech, které slouží ke komunikaci mezi buňkami navzájem. Z toho lze říci, že stádium pseudohyfy má daleko blíže ke stádiu kvasinky než ke stádiu hyfy (Odds, 1988).

Podpora virulence tvorbou hyf je možná několika mechanismy. Hyfy mohou napadat vrstvy epiteliálních buněk působením mechanické síly (Kumamoto a Vincses, 2005), dále jsou hyfy schopny narušovat a poškozovat endotelové buňky a v neposlední řadě může po fagocytóze růst hyfy způsobit lýzu, jak makrofágů, tak neutrofilů (Thompson a kol., 2011). Pokud se kvasinka dostane ze stádia kvasinky do stádia hyfy, výrazně se zvyšuje její patogenita. Také se zvyšuje odolnost vůči destrukci kvasinek makrofágy (ty jsou schopny zachytit buňky v kvasinkové formě, některé z nich usmrtí, ale řada z nich přežije a mění se na stádium hyfy), jelikož kandidy, které makrofág pohltní, začnou produkovat různé faktory, které vedou k usmrcení makrofága a úniku kandidy (Krysan a kol., 2014). Tvorbu hyfy podporuje zvýšená hladina estrogenu, zvýšené pH, hladovění a teplota 37°C (Sudbery, 2011).

Speciálním formou kvasinkových buněk je stádium chlamydospory, které je přítomno především u *Candida albicans* a *C. dubliniensis*. Chlamydospora vzniká obvykle na konci vláken hyf při nedostatku živin. Nápadné jsou svojí velikostí, která je až 4x větší než běžná kvasinková forma. Obsahují vysokou koncentraci lipidů a RNA, avšak vliv chlamydospor na patogenezí dosud nebyl prokázán (Staib a Morschhäuser, 2007).

1.6 Rozmnožování kvasinek

1.6.1 Pohlavní rozmnožování

Jakožto eukaryotní buňky se mohou kvasinky množit pohlavně. Při pohlavním rozmnožování kvasinek dochází ke vzniku pohlavních spor. Při tomto rozmnožování dochází ke spájení dvou haploidních buněk, gamet. Po splynutí buněk a jader vzniká diploidní buňka, zygota. V té se diploidní jádro dělí meiózou a z jednoho jádra vznikají čtyři haploidní. Ty jsou základem pohlavních spor. (Sherwood a Bennett, 2009)

Tento typ rozmnožování je typický například pro *Saccharomyces cerevisiae* a *Schizosaccharomyces pombe*, méně pak u patogenních zástupců. Například u rodu *Candida* je více typické rozmnožování pučením (Sherwood a Bennett, 2009). Nedávné studie však odhalily možnost pohlavního rozmnožování u *Candida lusitaniae* a *C. guilliermondii* (Heitman, 2007), přitom geny potřebné k tomuto rozmnožování mají i *C. glabrata*, *C. parapsilosis* a *C. tropicalis*, ale pro ně je meióza atypická (Butler a kol., 2009).

1.6.2 Nepohlavní rozmnožování

Při nepohlavním rozmnožování neboli pučení, dochází ke vzniku geneticky stejných dceřiných buněk z buňky mateřské. K formování pupenů dochází nejčastěji na opačném pólu sférických buněk. Dceřiné buňky rostou do průměru, který je menší, než je průměr mateřské buňky. Když buňky dosáhnou určité velikosti, dojde k samotnému dělení, které se označuje jako cytokineze. U některých rodů, jako je např. *Candida*, nedochází k oddělení buněk po pučení, ale zůstávají s mateřskou buňkou spojeny. Tyto kvasinky pak tvoří dlouhá vlákna, tzv. pseudohyfy (Knop, 2011).

2 PATOGENNÍ ZÁSTUPCI KVASINEK

2.1 Rod *Candida*

Kvasinky rodu *Candida* způsobují kandidózu, která je jedním z nezávažnějších infekčních onemocnění u imunosuprimovaných pacientů. Je známo asi 200 druhů kandid, z nichž je patogenních zhruba 10 %. Některé druhy se vyskytují v lidském organismu, zejména pak v trávicím traktu, na pokožce a některé se mohou vyskytovat v plicích. Významnými patogenními kvasinkami rodu *Candida* jsou *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* (Gray a Roberts, 1988). Celková úmrtnost způsobená kvasinkami rodu *Candida* se pohybuje okolo 30 % až 60 % (Hirano a kol., 2015).

2.1.1 Makroskopické a mikroskopické znaky

Kolonie kvasinek rodu *Candida* jsou z makroskopického hlediska zbarveny krémově až nažloutle s pastovitou, hladkou, lesklou nebo suchou strukturou. Z mikroskopického hlediska dochází k variacím u různých druhů (Louria a kol., 1963). Co mají kvasinky rodu *Candida* společné je vznik blastospor (kulaté či protáhlé), tedy množení pomocí pučení. Pokud se blastospor spojují do protáhlých řetízků, vznikají tzv. pseudohyfy, které jsou přítomny u většiny těchto kvasinek. Za nepříznivých podmínek mohou kandidy tvořit rezistentní buňky, tzv. chlamydospor (Cauchie a kol., 2017).

C. albicans může přecházet mezi formou bílou a neprůhlednou (tzv. white-opaque switching system). Buňky bílé formy jsou kulaté a tvoří bílé kolonie. Buňky neprůhledné formy jsou větší a tvoří šedé kolonie (Palková a Váchová, 2016). Bílá forma proniká do krve, kde způsobuje systémové infekce (Lockhart, 2005) a neprůhledná forma osidluje lépe pokožku (Kvaal a kol., 1999). Toto přecházení mezi formami je regulováno na různých úrovních, včetně transkripční a post-transkripční regulace, remodelování chromatinu a je ovlivněné takovými faktory prostředí jako teplota, hladina kyslíku, úroveň CO₂ a NH₃ (Scaduto a Bennett, 2015). Existují ještě dvě další méně významné formy kvasinek rodu *Candida*, a to šedá a střevní, které se liší od prvních dvou zmiňovaných zejména buněčnou morfologií (Palková a Váchová, 2016).

2.1.2 Rezistence vůči antimykotikům

Jednotlivé druhy patogenních kvasinek rodu *Candida* se významně liší v rezistenci vůči různým antifungálním látkám. Například *C. glabrata* je rezistentní na echinokandiny (Garcia-

Effron a kol., 2009), *C. albicans* na azoly, *C. lusitaniae* na flucytosin. Tyto rezistence jsou způsobené převážně genovými mutacemi (Morace a kol., 2014).

Vlastním obraným mechanismem kvasinek vůči antimykotikům je tvorba biofilmu. Pro srovnání, *C. albicans*, která tvoří biofilm, je až 100x odolnější vůči flukonazolu než planktonická forma (Kumamoto, 2002). Další kandida, která může tvořit biofilm je *C. dubliniensis*, u které tvorba biofilmu vykazuje významnou rezistenci vůči antimykotikům (Ramage a kol., 2001). Naopak u biofilmů *C. glabrata* nebyla zjištěna zvýšená antifungální rezistence (Hawser a Douglas, 1995), a dokonce netvořila ani exopolymerní matici (Kuhn a kol., 2002).

2.1.3 Faktory virulence

Prvním z faktorů virulence kvasinek rodu *Candida* je tvorba extracelulárních hydrolytických enzymů. Ty hrají roli v adhezi, průniku do tkáně a invazi. Aspartyl proteinázy jsou skupina enzymů, které působí štěpení proteinů hostitelské vaginální epiteliální buňky, což má za následek poškození sliznice (Goncalves a kol., 2016). Také usnadňují růst hyfy (Tsui a kol., 2016). Druhou a třetí skupinou sekrečních enzymů jsou lipázy a fosfolipázy. Ty přispívají k poškození membrány hostitele a adhezi ke tkáním (Cauchie a kol., 2017). Důležitým enzymem je hemolyzin, který rozkládá hemoglobin hostitele a vede k zisku železa, které je důležité pro přežití kandid (Tsang a kol., 2007) a také má za následek hlubší tkáňovou invazi (Deorukhkar a kol., 2014).

Proteiny teplotního šoku (heat shock proteins) působí jako chaperony (proteiny, účastníci se skládání bílkovin) tím, že brání rozvinutí proteinů a nespecifické agregaci proteinů. To může vést k následnému usmrcení buněk za podmínek, jako je vysoká teplota, nedostatek živin a oxidační stres (Mayer a kol., 2014).

2.2 Rod *Cryptococcus*

Do rodu *Cryptococcus* řadíme 37 druhů této kvasinky (Li a Mody, 2010). Nejznámější zástupce tohoto rodu je *Cryptococcus neoformans*, dalšími patogenními kvasinkami jsou *Cr. gattii* a méně časté *Cr. albidus*, *Cr. laurentii* (Khawcharoenporn a kol., 2007). *Cryptococcus neoformans* postihuje především imunokompromitované jedince, jako jsou pacienti s HIV, pacienti po transplantaci orgánů a pacienti užívající imunosupresivní látky. Způsobuje onemocnění zvané kryptokokální meningitida, ta je hlavní příčinou smrti u pacientů s HIV (Li a Mody, 2010).

K infekci *Cr. neoformans* dochází po vdechnutí těchto kvasinek, popř. spór (zdrojem může být např. ptačí trus). Ty pak klíčí v plicích hostitele, při čemž dochází k přeměně metabolicky inaktivní formy na metabolicky aktivní formu, díky které získávají kvasinky živiny včetně uhlíku, dusíku a mikroživin, jako měď, zinek a železo (Ballou a Johnston, 2017).

2.2.1 Faktory virulence

Na povrchu buněk *Cr. neoformans* se nachází kapsule. Pod ní je buněčná stěna, ve které je obsažen pigment melanin. Melanin vychytává kyslíkové radikály hostitele a díky tomu je schopen zabránit oxidativnímu poškození buňky. Melanin se může vázat na fungicidy a snižovat tak účinnost léků. Umožňuje také buňce odolávat v širším teplotním rozmezí, přežít v přítomnosti těžkých kovů nebo odolat ionizujícímu záření (McDonald a kol., 2012).

Zatímco u bakterií jsou polysacharidové kapsule zcela běžnou záležitostí, u kvasinek je tato vlastnost čistě záležitostí rodu *Cryptococcus* a *Rhodotorula* (Doering, 2000). *Cr. neoformans* je kulatá, oválná buňka o velikosti přibližně 2,5 µm bez kapsulárního pouzdra. Kapsule se nachází mimo buněčnou stěnu a její velikost může kolísat od 1 do 50 µm v závislosti na prostředí a podmínkách růstu (Frasas a kol., 2009). Funkcí kapsule je ochrana před vyschnutím buňky a také ochrana před fagocytózou hostitele (Kozel a Gotschlich, 1982). U *Cr. neoformans* je složení této kapsule hlavním faktorem virulence. Polysacharidy tvořící kapsule jsou galaktoxylomanan a glukuronoxylomanan, druhý uvedený tvoří až 90 % hmotnosti kapsule (McFadden a kol., 2006). Změna velikosti kapsule pravděpodobně souvisí s virulencí a také je závislá na dostupnosti CO₂ a koncentraci železa. Ve skutečnosti je růst kapsule zapříčiněn množением polysacharidů, které ji tvoří. Kapsule se díky polysacharidům stává elastickou, což může hrát roli v patogenitě (Frasas a kol., 2009).

Rod *Cryptococcus* je schopen tvořit gigantické buňky, tzv. titanové buňky. Ty svojí velikostí odolávají obraným mechanismům hostitele (fagocytóze) a zároveň chrání před fagocytózou i ostatní, menší buňky v jejich blízkosti (McDonald a kol., 2012).

2.3 Rod *Trichosporon*

Do rodu *Trichosporon* spadá okolo 51 druhů kvasinek, z nichž je 16 patogenních (Colombo a kol., 2011). Kvasinky tohoto rodu jsou běžně přítomné v půdě, ve vodě, ale i na lidské pokožce a v trávicím traktu (Taj-Aldeen a kol., 2009). Mezi časté patogenní zástupce patří *Trichosporon ovoides*, *T. inkin*, *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. capitatum*, *T. cutaneum* a *T. mucoides* (Guého a kol., 1994). *T. asahii* je nejčastěji izolovaný druh z krve a moči (Iturrieta-González a kol., 2014). Četný výskyt vykazují i *T. asteroides* a *T. mucoides*. *T. inkin*

a *T. cutaneum*, které způsobují nejčastěji kožní mykózy (Colombo a kol., 2011). Z patogenního hlediska mohou způsobovat nemoc zvanou bílá piedra. Daleko závažnější je onemocnění trichosporonóza, která vzniká u imunokompromitovaných pacientů. Může nastat po transplantaci kostní dřeně, orgánů a u pacientů s HIV (Cawley a kol., 2000). Při léčbě se jako nejúčinnější ukázala léčba triazoly, např. vorikonazolem (Anaissie a kol., 1992).

Důležitou roli, v patogenitě a rezistenci vůči antimykotikům, hraje tvorba biofilmu. U rodu *Trichosporon* byla zjištěna podobná, dokonce i vyšší úroveň tvorby biofilmu než u kandid. Kvasinky rodu *Trichosporon* tvořící biofilmy jsou až 1000x odolnější vůči fungicidům než planktonické buňky. Dále mohou tvořit hyfy, pseudohyfy, blastospory a arthrokonidie, což je nepohlavní výtrus, který vzniká rozpadem neboli fragmentací vláknů na jednotlivé buňky (Iturrieta-González a kol., 2014).

Z makroskopického hlediska vykazují jednotlivé druhy mírné variace. Barva kolonií může být bílá, krémová až žlutá. Nejčastěji izolovaným druhem je *T. asahii*, který tvořil bílé kolonie o průměru 16-22 mm. Rozdíl může být v tvorbě okrajových zón kolonií, kde například u *T. cutaneum* a *T. asahii* byly patrné okrajové zóny, ale u *T. inkin* chyběly. Pro rozlišení jednotlivých druhů se může využít rozdílné kultivační teploty, ribozomální DNA, test na ureázu, fenol oxidázu a test na redukci dusičnanů (Li a kol., 2005).

2.4 Rod *Malassezia*

Do tohoto rodu spadá zhruba 14 druhů kvasinek, které byly vyizolovány z lidských a zvířecích vzorků (Wang a kol., 2014). Ke svému růstu potřebují kožní lipidy (Findley a kol., 2013). Klinicky nejvýznamnější jsou *M. globosa*, *M. sympodialis*, *M. restricta*, *M. obtusa*, a *M. furfur*. Z patogenního hlediska způsobují řadu kožních onemocnění, jako pityriasis versicolor a malaseziová folikulitida. U pacientů s AIDS či Parkinsonovou chorobou mohou způsobovat seboroickou dermatitidu. Přítomnost kvasinek *Malassezia* je také spojována s psoriázou, konfluenční a síťkovou papilomatózou a atopickou dermatitidou (Pedrosa a kol., 2014). Kvasinky tohoto rodu patří mezi běžnou kožní mikroflóru, patogenními se stávají, pokud dojde k narušení imunitního systému (Faergemann, 1999). Může dojít ke vzniku hyfy, která umožňuje kvasinkám průnik do hostitelských tkání (Brand, 2012).

Velký vliv na patogenitu při seboroické dermatidě mají enzymy lipázy a fosfolipázy, které mohou působit, jako dráždivé a imunostimulační molekuly (Brand, 2012). Bylo zjištěno, že aktivita fosfolipáz u těchto kvasinek je přímo úměrná množství produkce biofilmu, který

mohou tyto patogeny tvořit (Figueredo a kol., 2012). Dále mohou produkovat indoly, které mění vlastnosti téměř všech buněk, které se nacházejí v epidermis pokožky (Magiatis a kol., 2013).

Ve vztahu k lidské pokožce může nastat několik variant působení a to komensalismu u zdravých pacientů, jemné změny ve funkci melanocytů, což vede k hyperpigmentovaným plakům, bez přítomnosti zánětu, dále zánět bez generování protilátek, tedy seboroická dermatitida, indukce specifické imunity, tedy atopická dermatitida, invaze a zánět vlasového folikulu, tedy folikulitida (Velegaki a kol., 2015).

2.5 Rod *Rhodotorula*

Kvasinky tohoto rodu jsou všudypřítomné, vyskytují se ve vzduchu, vodě, půdě, na rostlinách, ale také jsou přítomny v lidském organismu, zejména na kůži, genitáliích nebo tvoří oční mikroflóru (Forés a kol., 2012). Patří sem 46 druhů kvasinek, z toho jen 3 mohou způsobit infekci u lidí (Duboc de Almeida a kol., 2008). *R. mucilaginosa* je nejčastěji izolovanou patogenní kvasinkou tohoto rodu, dále jsou čteně izolovány *R. glutinis* a *R. minuta*. Jsou schopny vyvolat lokální infekce (endoftalmitida a peritonitida), ale i systémové infekce, jako fungémie, endokarditida a meningitida (Forés a kol., 2012). Ke vzniku infekce touto kvasinkou může dojít při neutropénii, léčbě steroidy, při chemoterapii nebo při léčbě imunosupresivními látkami (Lunardi a kol., 2006).

Tvar buněk může být oválný a protáhlý. Mohou tvořit kapsule a v důsledku toho mají kolonie slizovitý charakter, jiné jsou pastovité, suché a vrásčité (Robinson a Batt, 2000). Pro tento rod je specifická jejich tvorba karotenoidů (β -karoten, torulin a torularhodin) a lipidů (Aksu a Eren 2007). Karotenoidy pak nacházejí vysoké využití ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu (Hernández-Almanza a kol., 2014). Díky karotenoidům jsou kolonie těchto kvasinek zbarveny lososovitě růžově až červeně (Lo Re a kol., 2003). Mohou vykazovat vysokou fosfolipázovou aktivitu, díky čemuž lépe prostupují skrze buněčné membrány hostitele. Jejich hlavními produkty jsou lipidy, které dosahují až 20 % jejich biomasy (Robinson a Batt, 2000).

Tento rod vykazuje velkou rezistenci vůči azolům a echinokandinům. Lepší variantou je amfotericin B, avšak ani ten není dokonalým antimykotikem proti těmto kvasinkám, a tak i přes léčbu touto látkou zůstává velká úmrtnost pacientů (Zaas a kol., 2003). Novější studie provedená Thomsonem a kol. (2017) doporučuje jako nejefektivnější lék právě amfotericin B a 5-fluorocytosin (Thomson a kol., 2017).

3 PŘÍČINY KVASINKOVÉ INFEKCE

3.1 Užívání antibiotik a kortikosteroidů

Vlivem antibiotik na kvasinku *Candida albicans* se zabývali Downward a kol. v roce 2013. Cílem studie bylo prokázat, jaký vliv mají antibiotika, konkrétně cefoperazon, na možnost vzniku kvasinkové infekce a změnu střevní mikroflóry laboratorních myší. Jedné polovině myší byla podána antibiotika a druhá skupina byla bez antibiotik. Následně byly do myší vpraveny kvasinky a zkoumalo se, jak dlouho tyto kvasinky vydrží v organismu myší. Bylo zjištěno, že u myší s antibiotiky kvasinky přetrvávaly i po třech měsících. Naopak u myší bez antibiotik vymizely do 21 dnů. Hladina bakteriální mikroflóry ve střevě zůstala u obou skupin myší stejná, lišilo se však složení střevní mikroflóry. U myší s antibiotiky byla výrazně snižená hladina laktobacilů, což jsou pro organismus zdraví prospěšné bakterie, které slouží jako obranný prostředek proti nadměrnému množení kvasinek. Ochranou proti takovému působení je užívání probiotik (Downward a kol., 2013).

V případě užívání steroidů, je nejvýznamnější jejich vliv na snížení funkce imunitního systému. Tento problém nastal v případě astmatiků, kteří užívají steroidy v podobě inhalace. Velice klíčovou roli v léčbě astmatu hrají látky flutikason-propionát a beklometason-dipropionát. Tyto látky vykazují vynikající klinickou účinnost v léčbě astmatu. Mohou však mít negativní vliv a při inhalaci mohou tyto látky napomáhat tvorbě kandidózy v ústech pacienta. (Fukushima a kol., 2003).

Kortikosteroidy jsou imunosupresivní léky, používané pro potlačení autoimunitní reakce při různých onemocněních. Kazali Alidjinou (2012) se zabýval klinickou studií muže ve věku 58 let, který užíval kortikosteroidy, azathioprin a infliximab, pro léčbu Crohnovy choroby, která se u něho objevila v roce 1966. V roce 2007 se u pacienta vyvinul maligní B-lymfom tenkého střeva, jako následek imunosupresivní léčby. Po následujících dalších komplikacích byla pacientovi v roce 2010 diagnostikována kandidémie (Alidjinou, 2012).

3.2 Těhotenství a perorální antikoncepce

Vulvovaginální kandidóza je onemocnění postihující během života 3/4 žen (das Neves a kol., 2008). Za téměř 90 % vulvovaginální infekce může *Candida albicans*, menší, ale významný podíl má *Candida glabrata* (Sobel, 2016). Riziko infekce je vyšší u těhotných žen, zejména díky změnám v hladině estrogenu, glykogenu a progesteronu (Monif a Baker, 2003). Progesteron potlačuje schopnost neutrofilů bojovat proti kandidám (Nohmi a kol., 1995), estrogen naruší integritu vaginálních epitelálních buněk, proti takovým patogenům, jako je

kandida a zároveň snižuje hladinu imunoglobulinů ve vaginálních sekretech (Fidel a kol., 2000). Vulvovaginální kandidóza se vyskytuje především u žen, které procházejí luteální fází menstruačního cyklu, kdy jsou zvýšeny právě hladiny progesteronu (Špaček a kol., 2007).

Perorální antikoncepce je používána především ženami ve vyspělých zemích. Používání těchto pilulek však přineslo otázku, zda mají estrogenní hormony vliv na koncentraci kandid. Cílem studie provedené v Súdánu v roce 2012 bylo zjistit četnost výskytu kvasinkové infekce v závislosti na užívání perorální antikoncepce. Celkový počet pozorovaných žen byl 158 (z nich 108 užívalo antikoncepční pilulky a 50 žen neužívalo tento druh antikoncepce). Z tohoto počtu byla kvasinková infekce zjištěna u 28 žen, z nichž bylo 27 uživatelkami perorální antikoncepce. Tento fakt svědčí o tom, že užívání perorální antikoncepce zvyšuje riziko výskytu kandidózy (Zakout a kol., 2012).

3.3 Diabetes mellitus

Touto problematikou se zabývalo hned několik studií. Jednu takovou studii provedli Patel a kol. v roce 2017. Cílem studie bylo zhodnotit prevalenci orální kolonizace kandid u pacientů s diabetem a její vztah k faktorům, jako je druh kvasinky, hladina glukózy v séru a míra citlivosti izolovaných kvasinek na antifungální látky. Celkový počet osob s onemocněním diabetes mellitus druhého typu byl 100, stejně tak bylo i osob bez onemocnění diabetes mellitus. U zdravých pacientů byl zjištěn výskyt perorálního kandidózy z 32 %. U pacientů s diabetes mellitus byl tento výskyt zjištěn u 66 %. V 71,9 % se jednalo o kvasinku *Candida albicans*. Průměrný věk všech pacientů byl okolo padesáti let. Zároveň nebyla zjištěna závislost kandidózy na délce trvání onemocnění diabetu, věku a pohlaví (Patel a kol., 2017).

Výzkum, který provedl Zomorodian a kol. v roce 2016, vyvrátil spekulace o závislosti typu diabetu na vznik kandidózy. Při tomto výzkumu byla zjištěna přítomnost kvasinek rodu *Candida* u 62,5 % diabetiků s typem 1. U diabetiků s typem 2 to bylo 69 %. Zajímavý byl výskyt Candid u zdravých pacientů, který činil 50,5 %. Výsledky potvrdily tvrzení, že vznik kandidózy není závislý na typu diabetu. (Zomorodian a kol., 2016).

3.4 Strava s vysokým obsahem sacharidů

Je známo, že adheze kvasinek na povrch hostitele je ovlivněna řadou faktorů. Mezi tyto faktory patří i strava s vyšším obsahem sacharidů. Například adheze *C. albicans* na zubní akrylátové a epiteliální buňky je výrazně zvýšena, pokud jsou tyto kvasinky kultivovány na médiu, obsahující sacharózu (Samaranayake a kol., 1980). Zvýšení adheze bylo prokázáno po kultivaci kvasinkové kultury při použití médií obsahující maltózu, glukózu, galaktózu,

sacharózu a xylitol. Maltóza vykazovala až 3x větší zvýšení adheze než glukóza. Naopak laktóza nevykazovala žádné účinky na adhezi (Samaranayake a MacFarlane, 1982).

3.5 Chemoterapie a radioterapie

Přítomnost kandid v dutině ústní postihuje především pacienty s karcinomem hlavy a krku, jako následek léčby chemoterapií a radioterapií. Radioterapie se používá, jako primární způsob léčby hlavně u karcinomu jazyka. Radioterapie způsobuje orální mukozitidu, vředy, dysgeuzii a dysfágii. Navíc jsou v průběhu radioterapie ovlivněny slinné žlázy, a to jak strukturně, tak i funkčně. Toto kvantitativní i kvalitativní ovlivnění slin vede k xerostomii, která usnadňuje růst kvasinek (Rajendran a Sivapathasundharam, 2011).

Chemoterapie se často používá, jako doplněk léčby karcinomu laryngu a nosohltanu. Tyto cytotoxické léky poškozují nejen nádorové buňky, ale také normální buňky. Orální reakcí organismu na chemoterapii je slizniční eroze a ulcerace, které mohou vést k osídlení dutiny ústní nejen kvasinkami, ale i bakteriemi (Rajendran a Sivapathasundharam, 2011).

Tento fakt potvrzuje výzkum, který provedl Manish Jain v Indii v roce 2016. Cílem této studie bylo analyzovat orální kolonizaci kvasinkami rodu *Candida*, včetně druhového rozlišení u zdravých nosičů a u pacientů, kteří v minulosti prodělali RT či CT. Celkový počet pacientů po RT či CT byl 50, stejně početná byla i skupina zdravých nosičů, kteří neprošli žádnou ze zmíněných terapií. U kontrolních jedinců byl zjištěn nález kandid v 10 případech (20 %). U pacientů po RT či CT byl zjištěn nález kandid v 35 případech (70 %), přitom 50 % pacientů prošlo radioterapií, 75 % chemoterapií a 81,25 % prošlo oběma typy terapie (Jain, 2016).

3.6 Poškození imunitního systému

Porucha či poškození imunitního systému může vést k mukokutánní a systémové kandidóze. Tyto poruchy mohou být způsobeny záměrnou imunosupresí pacientů po transplantaci např. kostní dřeně nebo orgánů při rakovině, akutní leukémii, léčbě imunosupresivními látkami a v neposlední řadě při onemocnění AIDS. K takovýmto imunosupresivním nemocem dochází nejčastěji z důvodu defektu např. neutrofilů, T-lymfocytů a B-lymfocytů (Low a Rotstein, 2011).

U pacientů s akutní leukémií je riziko vzniku kandidózy závislé na typu leukémie, závažnosti a délce trvání neutropenie a typu chemoterapeutických činidel používaných k léčení leukémie. Neutrofily jsou obecně vysoce destruktivní vůči hyfám hub, a to zejména prostřednictvím

volných kyslíkových radikálů. Zejména neutropenie spojená s poškozením kůže a střeva vede ke vzniku kandidózy (Low a Rotstein, 2011).

U pacientů s HSCT se infekce projevuje obvykle po několika týdnech až měsících (Nucci a Marr, 2005). Příjem vysokých dávek cytotoxických látek a celkové ozařování těla může vést k prodloužení neutropenie a rozpadu gastrointestinální sliznice traktu, což vede ke zvýšení rizika kandidózy (Marr, 2008).

Pacienti s HIV trpí nejčastěji orofaryngeální kandidózou. U tohoto onemocnění bylo zjištěno, že nejčastěji za infekci může *C. albicans*. Četný výskyt se však objevil u *C. dubliniensis* a kolonizace touto kvasinkou je snad více závažná, než u *C. albicans*, jelikož *C. dubliniensis* může být rezistentní na flukonazol. Taková studie byla prováděna v Indii a potvrdila, že kandidóza může být společným projevem u pacientů s HIV (Das a kol., 2016). Pacienti s HIV vykazují sníženou hladinu T-lymfocytů a zvýšenou hladinu HIV RNA. K infekci přispívá nízké pH slin, snížený průtok slin a špatná zubní hygiena (Muzurovic a kol., 2012). Také bylo zjištěno, že kandidy, přítomné v ústní dutině, mohou způsobovat zubní kaz. Tento projev je velmi častý u dětí, které jsou nakažené HIV (Cerqueira a kol., 2007). K tomu dochází zejména proto, že kandidy jsou schopny produkovat kyselinu mléčnou a další enzymy, které narušují zubní strukturu (Nishimura a kol., 2002).

Porušení imunitního systému je hlavní příčinou vzniku kandidózy. U zdravých jedinců je imunitní odpověď vůči těmto patogenům dostačující, díky epitelální bariéře a vrozeným imunitním reakcím. K obraně proti infekci přispívají svojí funkcí T-lymfocyty (Th1 a Th17), Interferon- γ , interleukin 17A, které indikují nárůst neutrofilů v místě infekce, aktivují fagocytózu a zlepšují funkci epitelální bariéry (Gozalbo a kol., 2017). V tenkém střevě mohou kandidy prostoupit skrz intestinální bariéru do krevního řečiště a způsobit tak infekci. V tom kandidám brání zejména muciny, které mohou snižovat tvorbu biofilmů, kontrolovat fyziologické procesy kvasinek a také inhibovat přeměnu kandid na vláknitou formu (Colina a kol., 1996).

4 ANTIMYKOTIKA

4.1 Imidazolová antimykotika

V současné době jsou komerčně nejrozšířenější ketokonazol, klotrimazol, miconazol a econazol. Jejich předností je široké spektrum účinku, vysoká intenzita aktivity a relativně málo vedlejších účinků na člověka. Všechny vycházejí z nesubstituovaného imidazolového kruhu. Důležitá je vazba dusík-uhlík, kdy na uhlík se mohou vázat až tři různé substituenty, díky čemuž dochází k odlišnosti nejen struktury léku, ale i aktivity (Plempel, 1979). Společným znakem této skupiny léku je inhibice cytochromu P450, který je důležitý pro tvorbu steroidních látek v těle (inhibuje syntézu mitochondriálních enzymů nadledvin), což se může jevit, jako jeden z vedlejších účinků, ale tohoto poznatku se dá také využít, pokud chceme cíleně omezit tvorbu steroidů (Loose a kol., 1983).

4.1.1 Ketokonazol

Ketokonazol je považován za účinné antimykotikum, zejména díky své nízké toxicitě a širokému spektru účinku proti mnoha patogenům (Restrepo a kol., 1980). Ketokonazol byl vůbec jedním z prvních imidazolů, které se začaly podávat per orálně k léčbě povrchových i systémových infekcí. Co se antifungálního spektra týče, má podobné účinky, jako jeho předchůdce mikonazol a zahrnuje řadu dermatofytů, dimorfních hub a kvasinek, včetně *Candida albicans* a *Cryptococcus neoformans*. V porovnání s ostatními imidazoly má in vitro menší kvantitativní účinek (Heel a kol., 1982). Inhibuje enzym CYP51, který se účastní přeměny lenosterolu na ergosterol, což vede k akumulaci 14- α -methylsterolů a inhibici růstu kvasinek. Má dvě chirální centra a existuje tedy ve čtyřech různých enantiomerech, které se liší svojí účinností, kdy cis enantiomery jsou účinnější než trans enantiomery (Novotna a kol., 2014). Používá se k účinné léčbě Cushingova syndromu (Sonino a kol., 1991) a rakoviny prostaty (Pont, 1984). Nevýhodou je jeho možný toxický účinek na játra a vznik nádorů, s tímto účinkem spojených (Stricker a kol., 1986).

4.1.2 Klotrimazol

Klotrimazol je účinným antimykotikem a také nejčastěji používaným imidazolem při léčbě vaginální kandidózy (Berg a kol., 1986). Byl vyvinut v roce 1968 společností Bayer, jako vůbec první dostupné azolové antimykotikum. Nízké koncentrace klotrimazolu, které mají malý účinek na růst kvasinek, mohou zmírnit symptomy onemocnění in vivo, kdy zabraňují epiteliálnímu poškození (Wächtler a kol., 2011). Vysoké koncentrace poškozují buněčné membrány kvasinek, díky čemuž do buněk pronikají fosfáty a draslík a ty inhibují syntézu

makromolekul kvasinek. Aktivita klotrimazolu in vitro je srovnatelná s aktivitou toxičtějšího amfotericinu B (Shadomy, 1971). Vůči klotrimazolu jsou citlivé rody *Candida*, *Cryptococcus* a další patogeny. Naopak rezistentní jsou gram-negativní bakterie. Mezi vedlejší účinky patří nevolnost, zvracení, průjem, břišní křeče a bolesti páteře (Utz, 1975). Výhodou tohoto léku jsou nízké účinné dávky a krátká doba terapie (Plempel, 1982).

4.1.3 Mikonazol

Poprvé byl popsán roku 1972, jako bílá krystalická látka nerozpustná ve vodě (Brugmans a kol., 1972). Mezi jeho klinické aplikace patří léčba houbových infekcí pokožky, nehtů, vaginální kandidózy a léčba gastrointestinálního traktu (Sawyer a kol., 1975). Intravenózní léčba mikonazolem je účinná při léčbě gastrointestinálního traktu, naopak per orální podání působí proti kožním infekcím a systémovým mykózám (Symoens, 1977). Mechanismus účinku je založen na poškození buněčné membrány a inhibici syntézy ergosterolu (Fromtling, 1988). Vedlejšími účinky jsou zvracení, toxicita k CNS (Jordan a kol., 1979), zimnice, kožní vyrážka a ztráta chuti k jídlu. Avšak lze říci, že v porovnání s ostatními antimykotiky je velice bezpečný a v minulosti byl doporučován, jako lék pro pacienty v těžkých stavech (Symoens, 1977).

4.1.4 Econazol

Econazol byl syntetizován společností Janssen Pharmaceutica v roce 1969. Strukturně se velmi podobá mikonazolu, avšak chybí mu jeden atom chlóru (Godefroi a kol., 1969). Je silně vázán sérovými proteiny a proto, je nevhodný pro léčbu systémových onemocnění. Účinný je proti kandidám a dalším kvasinkám, vláknitým houbám a gram-pozitivním bakteriím (Thienpont a kol., 1975). Studie provedená v Edinburghu roku 1982 prokázala jeho výborný účinek proti kožním mykózám, a to bez vedlejších účinků (Milne, 1982). Byla popsána řada mechanismů působení econazolu, včetně poškození mitochondrií (Mazabrey a kol., 1985), potlačení koncentrace ATP kvasinek (Odds a kol., 1986) a uvolnění aminoisomáselné kyseliny z buněk *C. albicans*, což svědčí o poškození buněčné membrány kvasinek (Georgopapadakou a kol., 1987).

4.2 Triazolová antimykotika

Společným znakem triazolů je jejich chemická příprava, která vychází z molekuly oxiranu, který reaguje s piperidinonem (Yu a kol., 2014). Stejně jako imidazoly i zde dochází k inhibici cytochromu P450. Následkem toho je inhibována syntéza ergosterolu, který je důležitou složkou buněčných membrán kvasinek (Heimark a kol., 2002). Triazoly jsou

aktivnější než imidazoly, protože jsou vysoce selektivní pro kvasinkový cytochrom P450 (Cooper a McGinnis, 1996).

4.2.1 Terkonazol

Vyvinutý společností Janssen Pharmaceutica, byl vůbec prvním triazolovým antimykotikem, který byl použitelný pro lidská onemocnění (Heeres a kol., 1983). Terkonazol prokázal in vitro až 100% účinnost proti *Cryptococcus neoformans* a 60% účinnost vůči kvasinkám rodu *Candida*, u kterých bránil přeměně do stádia pseudohyfy. Také se lišila účinnost vůči různým zástupcům kvasinek rodu *Candida* (Tolman a kol., 1986). Pouze mírnou aktivitu vykazuje při perorálním podání, a to u vaginální kandidózy a dermatomykózy (Van Cutsem a kol., 1983).

4.2.2 Flukonazol

Flukonazol patří mezi fungistatické látky. V USA byla zjištěna relativně nízká rezistence *C. albicans* (do 2 %). Naopak vyšší rezistence byla u *C. tropicalis* (4-9 %), *C. parapsilosis* (2-6 %) a *C. glabrata* (11-13 %) (Pfaller a kol., 2013). Téměř zcela rezistentní je *C. auris*, která vykazuje až 93% rezistenci vůči flukonazolu (Lockhart a kol., 2017). Díky své nízké toxicitě a dlouhému poločasu v našem organismu má významné použití při léčbě kryptokokózy. Navíc jeho účinek nepodléhá závislosti na přijaté stravě a pH žaludku (Matos a kol., 2012) a je možné jej podávat intravenózně i perorálně (Castagnola a kol., 2012). Mezi vedlejší účinky patří bolest hlavy a zvracení, dále je možné zvýšení jaterních enzymů a jaterní selhání (Egunsola a kol., 2016).

4.2.3 Vorikonazol

Jeho chemická struktura vychází z flukonazolu, kdy dojde k náhradě jedné triazolové skupiny fluoropyrimidinovou skupinou a alfa methylací (Troke a kol., 1995). Uplatňuje se spíše pro léčbu lokálních účinků než systémových, aby se potlačily možné vedlejší účinky, ke kterým patří zvracení, nevolnost, průjem (Oude Lashof kol., 2012) a poruchy vidění (Johnson a kol., 2003). Velké využití nachází při léčbě očních infekcí, zejména pak při léčbě houbové infekce rohovky (Malhotra a kol., 2014). Hlavní význam však spočívá v léčbě invazivní aspergilózy a jícnové kandidózy. Možnost podání je jak intravenózní, tak i perorální (Jeu a kol., 2003). Z důvodu jeho nízké rozpustnosti je vázán na lipidové nosiče, díky čemuž se zvyšuje nejen jeho rozpustnost, ale i terapeutická účinnost (Füredi a kol., 2017). Vorikonazol je účinný proti kvasinkám rodu *Trichosporon*, *Cryptococcus* a *Candida*, včetně *C. krusei* a *C. glabrata*, které vykazují jen mírnou odolnost (Johnson a kol., 2003).

4.3 Polyenová antimykotika

Obecně velkou nevýhodou polyenů je jejich vysoká toxicita a špatná rozpustnost ve vodě. Na rozdíl od předchozích antimykotik, dochází ke vzniku rezistence patogenů vůči polyenům jen málokdy (Aparicio, 2005). Získávají se z různých druhů streptomycet a jsou tvořeny laktonovým kruhem. Charakteristická je přítomnost chromoforu, který je tvořen systémem tří až sedmi dvojných konjugovaných vazeb v makrolaktonovém kruhu (Aparicio a kol., 2004). Účinek polyenů je na základě vazby na steroly cytoplazmatické membrány, kdy dochází ke vzniku transmembránových kanálků, kterými z buňky unikají důležité látky pro kvasinku (Bolard, 1986).

4.3.1 Amfotericin B

Amfotericin B je jedním z nejúčinnějších antimykotik na trhu a je účinný vůči téměř všem mykotickým infekcím, včetně kryptokokózy a kandidózy (Cleveland, 2006). Vyskytuje se v několika formách, jako různé deriváty, které se zpravidla neliší v účinku na kvasinky, ale hlavně v různých vedlejších účincích na lidský organismus (Lass-Flörl a kol., 2011). Jeho toxicita může být snížena pomocí začlenění do liposomů nebo tvorby komplexů s lipidy (Jung a kol., 2009). Další použitelnou klinickou formou je jeho směs s deoxycholátem sodným (Wong-Beringer a kol., 1998).

Při fungicidním účinku Amfotericinu B se uplatňuje tvorba dvou různých typů kanálků. Nejprve vznikají nevodné kanálky, které jsou propustné pro kationty s výjimkou H^+ a takto vzniklé kanálky zastavují růst buňky, avšak nezpůsobují usmrcení. Pokud dojde k překonání kritické koncentrace Amfotericinu B, dojde k interakci mezi touto látkou a membránovými steroly za vzniku vodných kanálků, které jsou již pro H^+ propustné, s následnou cytolýzou (Cohen, 1998).

Mezi vedlejší účinky patří zimnice, horečka, nevolnost, hemolýza (Gallis a kol., 1990), selhání ledvin (Heidemann a kol., 1983), možné jsou i jaterní disfunkce (Inselmann a kol., 2002).

4.3.2 Nystatin

Dalším polyenovým antimykotikem je nystatin, který se užívá perorálně pro léčbu gastrointestinální mykózy a lokálně pro mukokutánní kandidózu (Faix a kol., 1989). Nystatin je produkován *Streptomyces noursei* (Kaur a Kakkar, 2010). Je vysoce účinný proti kvasinkám rodu *Candida* a *Cryptococcus*. Některé studie dokonce uvádějí vyšší antifungální

aktivitu, než amfotericin B (Offner a kol., 2004). Mezi vedlejší účinky patří nevolnost, zvracení a průjem (Cohen, 1982).

4.4 Echinokandiny

Echinokandiny jsou novější skupinou antimykotik, které působí na buněčnou stěnu inhibicí syntézy 1,3- a 1,6- β -D-glukanu a tím vykazují fungicidní účinnost proti kvasinkám (Canton a kol., 2009). Do této skupiny léků řadíme kaspofungin, anidulafungin a mikafungin (Munoz a kol., 2010). Echinokandiny vykazují výbornou účinnost proti *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* a *C. krusei*. Naopak *C. parapsilosis* vykazuje nižší náchylnost. Echinokandiny se uplatňují u kmenů, které jsou rezistentní na flukonazol (Messer a kol., 2006). Neúčinné jsou pro léčbu infekce u *Cryptococcus neoformans* (Feldmesser a kol., 2000). Kvůli jejich nízké absorpci ve střevě se podávají intravenózně (Munoz a kol., 2010). Mezi vedlejší účinky patří hypokalémie, nevolnost, zvracení, zácpa (Krause a kol., 2004), bolest hlavy, zimnice, horečka. Vedlejší účinky jsou však mírné a většinou nejsou důvodem k přerušení léčby (Stone a kol., 2002).

5 DIAGNOSTIKA

5.1 Diagnostika onemocnění spojených s místem vzniku infekce

5.1.1 Infekce centrální nervové soustavy

Kvasinkové infekce CNS jsou nejčastěji způsobeny rodem *Cryptococcus* a mezi nejjednodušší opatření k získání klinického materiálu patří lumbální punkce (Schwartz a kol., 2018). Za přímou diagnostiku lze považovat mikroskopické vyšetření s optickými zjasňovači (De Pauw a kol., 2008). Získaná kultura by měla být inkubována nejméně po dobu pěti dnů (Patterson a kol., 2016). Mezi zobrazovací metody patří magnetická rezonance a výpočetní tomografie, která je méně vhodná pro rod *Cryptococcus* než magnetická rezonance (Loyse a kol., 2015).

Dalším diagnostickým vyšetřením je detekce kapsulárního polysacharidového antigenu ze séra nebo mozkomíšního moku pomocí latexové aglutinace (Williamson a kol., 2017). Novější testy detekují kapsulární glykoroxylomanan a vykazují dobrou citlivost vůči čtyřem sérotypům u *Cryptococcus neoformans* a *Cryptococcus gattii* (Huang a kol., 2015). Infekce CNS mohou být způsobeny také kvasinkami rodu *Candida*. U tohoto rodu lze provést detekci mananu, jakožto složky buněčné stěny kvasinek a k němu odpovídající protilátky. Spolehlivost toho testu je v současné době velmi nízká (Biesbroek a kol., 2013).

5.1.2 Orální infekce

Orální infekce jsou nejčastěji způsobeny kvasinkami rodu *Candida*. Vzorky pro kultivaci jsou odebírány z ústní sliznice pomocí tampónů, nanášeny na agarové destičky (Sabouraudův glukózový agar) obsahující glukózu a chloramfenikol a inkubovány 24 až 48 hodin při 37 °C. Na SDA tvoří kandidy krémové kolonie (Williams a Lewis, 2000). Po inkubaci je 5 až 10 kolonií inokulováno na chromogenní agar (inkubace 30 °C, 48 až 72 hodin), na kterém vyrůstají kandidy v zelených koloniích (Delgado a kol. 2009). Přítomnost *Candida hyphae* může být rychle potvrzena periodickým oksyličováním cytologického nátěru metodou PAS, při které vznikají aldehydy, které následně reagují se Schiffovým činidlem za vzniku fialového zbarvení. Ostatní kandidy jsou na tento test negativní (Farah a kol., 2000). Dalším způsobem rozlišení jednotlivých kmenů je sledování makroskopických odlišností kolonií na agaru (Ghelardi a kol. 2008). Pro přesnější rozlišení je třeba použít imunohistochemické techniky (Farah a kol., 2000).

5.1.3 Vaginální infekce

Mezi tradiční laboratorní vyšetření k odhalení vulvovaginální kandidózy patří bezpochybně KOH mikroskopický test, který využívá fyziologického roztoku a 10% roztok hydroxidu draselného, který rozruší vše mimo kvasinek. V dnešní době se od tohoto testu upouští kvůli jeho nízké citlivosti (do 70 %) a nástupu nových laboratorních metod (Sobel, 2016). PCR je v současnosti spolehlivou metodou, která však poskytuje výsledky až za několik dnů a je finančně náročná (Sobel a Akins, 2015). Za stále nejlepší metodu je považována kultivace na SDA, která však přináší výsledky za 7 dnů (Chatwani a kol., 2007).

5.1.4 Infekce močových cest

Kandidurie, jakožto infekce močových cest způsobená kvasinkami rodu *Candida*, je u většiny pacientů asymptomatická, tudíž pozorování klinických příznaků nemá větší význam (Achkar a Fries, 2010). Jedna ze studií zjistila pouze 4% zastoupení viditelných symptomů (Kauffman a kol., 2000). Mezi nejpoužívanější metody diagnostiky patří kultivace na běžných půdách, lepší podmínky pro růst kvasinek zajistíme použitím chromogenních médií (Okulicz a kol., 2008). Při pozorování močového sedimentu si všímáme především pyurie, avšak až 25 % pacientů, kteří trpí kandidurií, vykazují známky bakteriurie, která může taktéž způsobit pyurii, což zhoršuje celkovou diagnostiku (Kauffman a kol., 2000). Za potvrzení kandidurie je považována koncentrace 10^3 buněk kvasinek v ml moči (Sobel a kol., 2000). Pro diagnózu kandidurie lze použít různé imunochemické metody (např. ELISA) pro zjištění hladiny IL-17, IL-6 a IgG v moči, jelikož dochází k jejich zvýšení (Helbig a kol., 2013).

5.1.5 Infekce kůže

Infekci kůže způsobenou kvasinkami rodu *Candida* potvrzuje mikroskopický nález pseudomycélií, jelikož pouhý nález samostatných buněk může znamenat běžnou kolonizaci kůže. Důležitou roli při diagnostice zaujímá také kožní biopsie (Gentry a kol., 1994). Další možností je použít sérologické metody pro zjištění koncentrace mannanového antigenu nebo PCR (Sendid a kol., 1999). Při infekci kůže rodem *Cryptococcus* je po mikroskopii a kultivaci biotického vzorku možno použít rentgenové vyšetření hrudníku nebo titry kryptokokových antigenů (Virgili a kol., 2002).

5.2 Diagnostika kvasinkových infekcí dle metod

Kvasinkové infekce vyžadují rychlou diagnózu, aby bylo možné co nejrychleji zahájit antifungální terapii. Včasná diagnostika kvasinek je založena na detekci antigenních produktů, jako je manan a 1,3- β -D-glukan. Zároveň je možno kvasinky vypěstovat na celé

radě běžných médií, avšak pro selektivní diagnostiku je třeba použít speciální média. Biochemické testy a mikroskopie jsou v dnešní době považovány za málo účinné. Přednost se dává rychlejším a přesnějším metodám, jako je PCR či MALDI-TOF MS.

5.2.1 Diagnostika kvasinek založená na detekci mananu

Manan je polysacharid patřící mezi hlavní součásti buněčné stěny kvasinek *Candida* a při infekci je uvolňován do krve (Oz a Kiraz, 2011). Detekce antigenu mananu a jeho protilátek v séru představuje spolehlivou metodu pro diagnostiku invazivní kandidózy. Detekce protilátek je však u imunosuprimovaných pacientů málo citlivá, a proto se dává přednost detekci mananového antigenu (Reiss a Morrison, 1993). Další nevýhodou mananového antigenu je jeho rychlá clearance (Sendid a kol., 1999). Jako vyhodnocovací metoda se používá nejčastěji sendvičová ELISA, při které je intenzita zbarvení přímo úměrná koncentraci mananu (Rao a kol., 2002). Citlivost tohoto testu byla od 31 % do 92 % a specifita 68 % až 100 % (Weiner a Coats-Stephen, 1979). Aktuálnější výzkum provedený na kojencích vykazoval citlivost 94,4 % a specifitu 94,2 % (Oliveri a kol., 2008). Dalšími méně častými metodami jsou RIA (Weiner a Coats-Stephen, 1979) a latexová aglutinace (Herent a kol., 1992). Jako potvrzení infekce je dána hodnota koncentrace mananu 2 až 3 ng/ml séra (De Repentigny a kol., 1985).

5.2.2 Diagnostika kvasinek založená na detekci 1,3-β-D-glukanu

Polysacharid 1,3-β-D-glukan (dále jen BG) je součástí buněčné stěny mnoha kvasinek a ostatních hub včetně rodu *Candida*, *Cryptococcus* (Miyazaki a kol., 1995) a *Trichosporon* (Yoshida a kol., 1997). Bohužel je zde několik situací, které vykazují falešně pozitivní výsledek testu, jako bakteriální infekce (Pickering a kol., 2005), infekce způsobená *Pneumocystis jirovecii*, (Watanabe a kol., 2009) používání antibiotik, jako cefepim, piperacilin (Marty a kol., 2006) a hemodialýza s celulóзовými membránami (Koo a kol., 2009). Racil a kol. (2010) ve svém výzkumu označili tyto důvody za málo významné, přičemž mohou způsobit mírné, falešně pozitivní výsledky (Racil a kol., 2010). Jedna z mnoha studií, zabývajících se detekcí BG, zjistila 63% citlivost, 96% specifitu a 79% pozitivní prediktivní hodnotu BG (Senn a kol., 2008). Jiná studie však zjistila pozitivní prediktivní hodnotu velmi nízkou a to 10 až 12 % u pacientů s hematologickými malignitami, a proto autoři výzkumu nedoporučují používání BG, jako indikátoru pro zahájení antifungální léčby (Racil a kol., 2010). S ohledem na tyto znalosti, je třeba tuto diagnostickou metodu používat v kombinaci s dalšími metodami, jako je klasická kultivace a histopatologické metody. Další nevýhodou je neschopnost identifikovat jednotlivé druhy pomocí BG (Oz

a Kiraz, 2011). Jako potvrzení kvasinkové infekce je dána koncentrace BG větší nebo rovno 60 pg/ml (Odabasi a kol., 2004).

5.2.3 Kultivace na půdách

Kvasinky jsou schopné vyrůst na běžných půdách, jako je krevní či čokoládový agar. V případě, že ve vzorku ke kultivaci jsou přítomny bakterie, je třeba použít jiné, selektivní médium, jelikož bakterie jsou schopny potlačit růst kvasinek na běžných půdách. Takovým médiem může být Sabouraudův glukózový agar (Merz a Roberts, 1995), do kterého je možné přidat antibiotika streptomycin a penicilin pro potlačení růstu bakterií (Sandven a Lassen, 1999). SDA ve své klasické formě obsahuje 40 g/l glukózy, 10 g/l peptonu a 15 g/l agaru, výsledné pH je 5,6 (Odds, 1991). Je možné použít SDA v tekuté formě (24 h, 37 °C) pro pomnožení kvasinek. Kultivace na tuhé půdě vyžaduje inkubaci 48 hodin při 37 °C (Weissenbacher a kol., 2009).

Nevýhodou SDA je neschopnost rozlišit jednotlivé druhy kvasinek. Jakožto diferenciální kultivační médium je možno použít chromogenní agar, který slouží pro rozlišení *Candida albicans* (zelená), *Candida glabrata* (růžová), *Candida krusei* (světle růžová) a *Candida tropicalis* (modrá) na základě zbarvení kolonií (Weissenbacher a kol., 2009). Příkladem chromogenní půdy je Chromogenní Candida agar, který obsahuje 5-brom-4-chlor-3-indolyl, N-acetyl- β -D-glukosaminid a 5-brom-p-toluidinové soli, což jsou chromogenní substráty pro detekci kvasinkové hexosaminidasy a alkalické fosfatázy. Tento agar je schopen rozlišovat nejen jednotlivé druhy kandid, ale i kvasinky rodu *Cryptococcus*, *Rhodotorula* a *Trichosporon* (Ghelardi a kol. 2008).

5.2.4 Molekulární metody

Jelikož tradiční metody, jako je kultivace na půdách a mikroskopie nemají potřebnou citlivost a specifitu, je třeba rozvíjet nové, citlivější metody. V současné době je čím dál více rozšířená metoda polymerázové řetězové reakce. Velikou výhodou PCR je její rychlost, vysoká citlivost, specifita a potřeba malého množství DNA (Kazemi a kol., 2013), schopnost rozlišovat jednotlivé druhy kvasinek (Mahnss a kol., 2005) a také schopnost diagnostiky neživotaschopných kvasinek, které pohltily makrofágy a kultivací bychom je nezískaly. Metodu PCR vyvinul Kary Mullis s jeho kolegy v roce 1984 a velmi rychle našla uplatnění pro identifikaci mikroorganismů (Khot a Fredricks, 2014).

Při identifikaci kvasinek našla uplatnění především real-time PCR a nested PCR. Při identifikaci kvasinek rodu *Candida* z plné krve vykazovala real-time PCR 81% citlivost

a 96% specifita. U nested PCR byla citlivost 86 % a specifita 54 % (Khlif a kol., 2009). Při real-time PCR je cílem detekce gen ITS2, pro který je vhodný primer a sonda popsána Loonenem a kol. (Loonen a kol., 2013). Dalším možným cílem detekce je 28S rRNA, která obsahuje vysoce variabilní sekvence, díky kterým je možno určit především kvasinky rodu *Candida* a to na úrovni druhu (Thomasa kol., 2014). Kvasinky rodu *Candida* je dále možno detekovat pomocí genu LYS1, který kóduje sacharopin dehydrogenázu a LYS5, který kóduje fosfopantetheinyl transferázu (Guo a Bhattacharjee, 2006).

Jako nejčastěji vyšetřovaným klinickým vzorkem se udává plná krev, díky rychlejší extrakci nukleových kyselin (Oz a Kiraz, 2011). Dalším vhodným vzorkem je sérum. Jedna studie se zabývala diagnostikou kvasinek pomocí PCR v séru a plné krvi infikovaných pacientů. V plné krvi byla zjištěna pozitivní reakce v 7 z 10 případů, v séru pak 10 z 10 (Metwally a kol., 2008), ale stále existují spory ohledně toho, který z materiálů je vhodnější pro diagnostiku. Nevhodné pro diagnostiku jsou vzorky z respiračního traktu, jelikož zde může být *Candida* součástí běžné mikroflóry (Khot a Fredricks, 2014).

5.2.5 Mikroskopie

Mikroskopie představuje rychlou a levnou metodu pro diagnózu kvasinkové infekce, zejména u vaginální infekce. Vzorek je odebrán vatovým tampónem a umístěn do fyziologického roztoku. Následně se na podložní sklíčko nanese několik kapek 10% roztoku KOH, do kterých přidáme již zmíněný fyziologický roztok s kvasinkami. KOH pak způsobí lýzu všech nekvaskinových buněk, včetně bakterií. Bohužel test vykazuje nízkou specifitu a citlivost. Velikou roli zde hraje zkušenost a praxe pozorovatele. Zvýšit specifitu a citlivost může pomoci fixace a Gramova barvení (Van Der Pol, 2010).

5.2.6 Hmotnostní spektrometrie

MALDI-TOF MS je detekční metoda, založená na rozdělení nabitých částic dle jejich molekulových hmotností. Na matrici se vzorkem působí laserové záření s následnou desorbci molekul matrice i vzorku. Navíc molekuly vzorku podléhají ionizaci, jelikož dojde k předání H^+ iontů od molekul matrice. Následně je aplikováno extrakční napětí mezi destičku MALDI a vstupní štěrbinu průletového analyzátoru, čímž dojde k extrakci nabitých molekul dle zvolené polaritě napětí a k vlastní analýze v průletovém analyzátoru, při které získáme poměr hmotnosti iontů a jejich nábojů, tedy m/z . Tento výsledek je porovnáván s knihovnou spekter (Huong a kol., 2014).

Hlavní předností metody je její rychlost, jelikož dokáže analyzovat neznámý materiál do několika minut. Mezi další výhody MALDI-TOF MS patří možnost automatické přípravy vzorku, možnost aktualizace a úprav knihovny hmotnostních spekter, nízké provozní náklady a poměrně vysoká citlivost. Díky těmto výhodám tato metoda postupně vytlačuje konvenční metody pro identifikaci bakterií a kvasinek. Avšak každá metoda má své nevýhody a stejně tak je tomu i u MALDI-TOF MS. Mezi nedostatky metody řadíme vysoké pořizovací náklady a omezenou schopnost detekce mechanismů rezistence mikroorganismů. Hmotnostní spektrometrie má v identifikaci kvasinek slibnou budoucnost, jelikož stále dochází k vývoji této metody tak, aby se snížily provozní náklady, a naopak zvýšila rychlost, efektivita a životnost (Wieser a kol., 2012).

5.2.7 Biochemické testy

V minulosti se k definitivnímu druhovému určení používaly biochemické testy. Ty dělíme na auxanogramy a zymogramy v závislosti na tom, zda využívají sacharidy aerobně či anaerobně. Auxanogramy využívají při zpracování sacharidů kyslík a štěpení tak probíhá na bázi asimilace. Substráty zymogramů jsou zpracovávány za anaerobních podmínek, tedy na základě fermentace. Otčenášek a kol. (1990) navrhly postup, jak si oba typy testů vytvořit přímo v laboratoři (Otčenášek a kol., 1990). Pan Fragner (1992) pak vytvořil klíč k vyhodnocení obou typů testů, díky čemuž můžeme identifikovat okolo padesáti kvasinek na úrovni druhu (Fragner, 1992). Metoda dle pana Otčenáška a kol. (1990) je však příliš zdoluhavá, a proto byly vytvořeny nové komerční metody, při kterých jsou jednotlivé substráty v jamkách destiček. Příkladem takového testu je kolorimetrická sada VITEK 2 YST. Dokáže identifikovat většinu patogenních kvasinek, kdy u *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. krusei* vykazoval více jak 97% přesnost. Nepříznivé výsledky vykazoval pro *C. tropicalis* a *C. parapsilosis*, kdy hodnoty přesnosti spadly pod 80 % (Valenza a kol., 2008). Dalšími komerčními testy jsou například ID32C a Auxacolor systém, při kterých jsou výsledky dostupné do dvou dnů (Costa a kol., 2010). Díky příchodu nových metod, jako je PCR či MALDI-TOF MS, jsou biochemické testy značně na ústupu.

ZÁVĚR

Kvasinky způsobují infekční onemocnění především u imunosuprimovaných pacientů. Taková imunosuprese může být vyvolána užíváním antibiotik a kortikosteroidů, léčbou chemoterapií či radioterapií, dále po transplantaci orgánů a v neposlední řadě při infekci HIV. Mezi další faktory, které mohou způsobit kvasinkovou infekci, patří těhotenství, užívání hormonální antikoncepce, diabetes mellitus a strava s vysokým obsahem sacharidů. Při těchto stavech je třeba kontrolovat pacienta, aby nedošlo k vážnějšímu onemocnění. K tomu slouží včasná diagnostika, která je nezbytná pro zahájení léčby kvasinkové infekce. Mikroskopie a biochemická identifikace postupně ztrácí na významu, jelikož nejsou příliš specifické. Identifikace kvasinek pomocí kultivace je umožněna díky chromogennímu agaru či SDA. Avšak ani tato metoda není vhodná, kvůli dlouhé inkubační době. Za starší metodu, ale stále hojně používanou, je považována detekce 1,3- β -D-glukanu, jakožto antigenu buněčné stěny kvasinek. Novějšími metodami, které jsou stále ve vývoji, jsou PCR a MALDI-TOF MS. Obě metody slibují nízké provozní náklady, rychlou diagnostiku, vysokou citlivost a specifitu. Nevýhodou jsou vysoké pořizovací náklady. Díky těmto novým metodám je možné rychlé zahájení antifungální léčby. Jedním z nejúčinnějších antimykotik je amfotericin B. Ten má však vysokou toxicitu a není tak vhodný pro pacienty ve vážných stavech. Naopak nízkou toxicitu vykazuje relativně nová skupina léků, echinokandiny. Jejich nevýhodou je nižší účinnost proti některým kvasinkovým druhům. I přes širokou škálu antimykotik jsou kvasinkové infekce u imunosuprimovaných jedinců běžným onemocněním s vysokou úmrtností. Proto je třeba vylepšovat metody pro včasnou diagnostiku a vyvíjet nová antimykotika, která by měla vysokou efektivitu proti kvasinkám a zároveň nízkou toxicitu vůči vlastnímu organismu.

ZDROJE

ACHKAR, J. M. a B. C. FRIES. *Candida* infections of the genitourinary tract. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010, 23(2), 253-273. ISSN 0893-8512.

AKSU, Z. a A. T. EREN. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. *Biochemical Engineering Journal*. 2007, 35(2), 107-113. ISSN 1369703x.

ALIDJINOU, K. Azathioprine/corticosteroids/infliximab. *Reactions Weekly*. 2012, &NA;(1407), 12-13. ISSN 0114-9954.

ANAISSIE, E., A. GOKASLAN, R. HACHEM, R. RUBIN, G. GRIFFIN, R. ROBINSON, J. SOBEL a G. BODEY. Azole therapy for trichosporonosis: Clinical evaluation of eight patients, experimental therapy for murine infection, and review. *Clinical Infectious Diseases*. 1992, 15(5), 781-787. ISSN 1058-4838.

APARICIO, J. F. Generating novel polyene antifungal drugs. *Chemistry & Biology*. 2005, 12(5), 509-510. ISSN 10745521.

APARICIO, J., M. MENDES, N. ANTON, E. RECIO a J. MARTIN. Polyene macrolide antibiotic biosynthesis. *Current Medicinal Chemistry*. 2004, 11(12), 1643-1656. ISSN 09298673.

BALLOU, E. R. a S. A. JOHNSTON. The cause and effect of *Cryptococcus* interactions with the host. *Current Opinion in Microbiology*. 2017, 40, 88-94. ISSN 13695274.

BARNETT, J. A. A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, 1850-1880. *Yeast*. 2000, 16(8), 755-771.

BENDOŮÁ O. a KAHLER M. Pivovarské kvasinky. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981.

BERG, D., K. H. BÜCHEL, M. PLEMPEL a A. ZYWIETZ. Action mechanisms of cell-division-arresting benzimidazoles and of sterol biosynthesis-inhibiting imidazoles, 1, 2, 4-triazoles, and pyrimidines. *Mycoses*. 1986, 29(5), 221-229. ISSN 09337407.

BIESBROEK, J. M., F. M. VERDUYN LUNEL, J. J. KRAGT, G. J. AMELINK a C. J. M. FRIJNS. Culture-negative *Candida* meningitis diagnosed by detection of *Candida* mannan antigen in CSF. *Neurology*. 2013, 81(17), 1555-1556. ISSN 0028-3878.

- BLANKENSHIP, J. R. a A. P. MITCHELL. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Current Opinion in Microbiology*. 2006, 9(6), 588-594. ISSN 13695274.
- BOLARD, J. How do the polyene macrolide antibiotics affect the cellular membrane properties?. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1986, 864(3-4), 257-304. ISSN 03044157.
- BRAND, A. Hyphal growth in human fungal pathogens and its role in virulence. *International Journal of Microbiology*. 2012, 2012, 1-11. ISSN 1687-918x.
- BRUGMANS, J., J. VAN CUTSEM, J. HEYKANTS, V. SCHUERMANS a D. THIENPONT. Systemic antifungal potential, safety, biotransport and transformation of micronazole nitrate. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1972, 5(2), 93-99. ISSN 0031-6970.
- BUTLER, G., M. D. RASMUSSEN, M. F. LIN, a kol. Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature*. 2009, 459(7247), 657-662. ISSN 0028-0836.
- CANTON, E., J. PEMAN, A. VALENTIN, A. ESPINEL-INGROFF a M. GOBERNADO. In vitro activities of echinocandins against *Candida krusei* determined by three methods: MIC and minimal fungicidal concentration measurements and time-kill studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009, 53(7), 3108-3111. ISSN 0066-4804.
- CASADEVALL, A. a L. R. MARTINEZ. Biofilm formation by *Cryptococcus neoformans*. *Microbiology Spectrum*. 2015, 2, 135-147.
- CASTAGNOLA, E., E. JACQZ-AIGRAIN, F. KAGUELIDOU, R. MARAGLIANO, M. STRONATI, S. RIZZOLLO, D. FARINA a P. MANZONI. Fluconazole use and safety in the nursery. *Early Human Development*. 2012, 88, 11-15. ISSN 03783782.
- CAUCHIE, M., S. DESMET a K. LAGROU. *Candida* and its dual lifestyle as a commensal and a pathogen. *Research in Microbiology*. 2017, 168(9-10), 802-810. ISSN 09232508.
- CAWLEY, M. J., G. R. BRAXTON, L. R. HAITH, K. J. REILLY, R. E. GUILDAY a M. L. PATTON. *Trichosporon beigeli* infection: experience in a regional burn center. *Burns*. 2000, 26(5), 483-486.
- CERQUEIRA D. F., M. B. PORTELA, L. POMARICO, R. M. SOARES, I. P. SOUZA a G. F. CASTRO. Examining dentinal carious lesions as a predisposing factor for the oral prevalence of *Candida* spp in HIV-infected children. *Journal of Dentistry for Children*. 2007, 74(2), 98-103.

- CLEVELAND, K. O. Antimicrobial agents: Antibacterials and antifungals. A. BRYSKIER, eds. *Clinical Infectious Diseases*. 2006, 42(12), 1816-1816. ISSN 1058-4838.
- COHEN J. Antifungal chemotherapy. *Lancet*. 1982, 2(8297), 532–537.
- COHEN, B.E. Amphotericin B toxicity and lethality: a tale of two channels. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998, 162(1-2), 95-106. ISSN 03785173.
- COLINA, Á., F. AUMONT, N. DESLAURIERS, P. N. BELHUMEUR a L. DE REPENTIGNY. “Evidence for degradation of gastrointestinal mucin by *Candida albicans* secretory aspartyl proteinase.” *Infection and immunity*. 1996, 64 (11), 4514-4519.
- COLOMBO, A. L., A. C. B. PADOVAN a G. M. CHAVES. Current knowledge of *Trichosporon* spp. and trichosporonosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2011, 24(4), 682-700. ISSN 0893-8512.
- COOPER, C. R. a M. R. MCGINNIS. In vitro susceptibility of clinical yeast isolates to fluconazole and terconazole. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1996, 175(6), 1626-1631. ISSN 00029378.
- COSTA, A. R., F. SILVA, M. HENRIQUES, J. AZEREDO, R. OLIVEIRA a A. FAUSTINO. *Candida* clinical species identification: molecular and biochemical methods. *Annals of Microbiology*. 2010, 60(1), 105-112. ISSN 1590-4261.
- DAS NEVES J., E. PINTO, B. TEIXEIRA a kol. Local treatment of vulvovaginal candidosis: general and practical considerations. *Drugs*. 2008, 68(13), 1787-1802.
- DAS, P. P., L. SAIKIA, R. NATH a S. K. PHUKAN. Species distribution & antifungal susceptibility pattern of oropharyngeal *Candida* isolates from human immunodeficiency virus infected individuals. *Indian Journal of Medical Research*. 2016, 143(4), 495. ISSN 0971-5916.
- DE PAUW, B., T. J. WALSH, J. P. DONNELLY a kol. Revised definitions of invasive fungal disease from the european organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. *Clinical Infectious Diseases*. 2008, 46(12), 1813-1821.

- DE REPENTIGNY L., L. D. MARR, J. W. KELLER a kol. Comparison of enzyme immunoassay and gas-liquid chromatography for the rapid diagnosis of invasive candidiasis in cancer patients. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985, 21(6), 972-979.
- DELGADO, A. C. D., R. DE JESUS PEDRO, F.H. AOKI a kol. Clinical and microbiological assessment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and *Candida* oral colonization. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009, 15(4), 364-371. ISSN 1198743X.
- DEORUKHKAR, S. C., S. SAINI a S. MATHEW. Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile. *International Journal of Microbiology*. 2014, 2014, 1-6. ISSN 1687-918x.
- DOERING, T. L. How does *Cryptococcus* get its coat?. *Trends in Microbiology*. 2000, 8(12), 547-553.
- DONLAN, R. M. a J. W. COSTERTON. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002, 15(2), 167-193. ISSN 0893-8512.
- DOWNWARD ERB, J. R., N. R. FALKOWSKI, K. L. MASON, R. MURAGLIA a G. B. HUFFNAGLE. Modulation of post-antibiotic bacterial community reassembly and host response by *Candida albicans*. *Scientific Reports*. 2013, 3(1), 2191. ISSN 2045-2322.
- DUBOC DE ALMEIDA, G. M., S. FIGUEIREDO COSTA, M. MELHEM a kol. *Rhodotorula* spp. isolated from blood cultures: clinical and microbiological aspects. *Medical Mycology*. 2008, 46(6), 547-556. ISSN 1369-3786.
- EGUNSOLA, O., A. ADEFURIN, A. FAKIS, E. JACQZ-AIGRAIN, I. CHOONARA a H. SAMMONS. Safety of fluconazole in paediatrics: a systematic review. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2013, 69(6), 1211-1221. ISSN 0031-6970.
- FAERGEMANN, J. *Pityrosporum* species as a cause of allergy and infection. *Allergy*. 1999, 54(5), 413-419. ISSN 01054538.
- FAIX, R. G., S. M. KOVARIK, T. R. SHAW, R. V. JOHNSON. Mucocutaneous and invasive candidiasis among very low birth weight (less than 1,500 grams) infants in intensive care nurseries: a prospective study. *Pediatrics*. 1989, 83(1), 101-107.

- FARAH, C. S., R. B. ASHMAN a S. J. CHALLACOMBE. Oral candidosis. *Clinics in Dermatology*. 2000, 18(5), 553-562. ISSN 0738081X.
- FELDMESSER, M., Y. KRESS, A. MEDNICK a A. CASADEVALL. The effect of the echinocandin analogue caspofungin on cell wall glucan synthesis by *Cryptococcus neoformans*. *The Journal of Infectious Diseases*. 2000, 182(6), 1791-1795. ISSN 0022-1899.
- FIDEL P. L., J. CUTRIGHT, C. STEELE. Effects of reproductive hormones on experimental vaginal candidiasis. *Infection and Immunity*. 2000, 68(2), 651-657.
- FIGUEREDO, L. A., C. CAFARCHIA, S. DESANTIS a D. OTRANTO. Biofilm formation of *Malassezia pachydermatis* from dogs. *Veterinary Microbiology*. 2012, 160(1-2), 126-131. ISSN 03781135.
- FINDLEY, K., J. OH, J. YANG a kol. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*. 2013, 498(7454), 367-370. ISSN 0028-0836.
- FORÉS, R., A. RAMOS, B. ORDEN a kol. *Rhodotorula* species fungaemia causes low mortality in haematopoietic stem-cell transplantation. A case report and review. *Mycoses*. 2012, 55(3), 158-162. ISSN 09337407.
- FRAGNER, P. Urcování kvasinek izolovaných z lidského organismu. Praha: Academia, 1992. ISBN 8020000119.
- FRASES, S., B. PONTES, L. NIMRICHTER, M. L. RODRIGUES, N. B. VIANA a A. CASADEVALL. The elastic properties of the *Cryptococcus neoformans* capsule. *Biophysical Journal*. 2009, 97(4), 937-945. ISSN 00063495.
- FROMTLING, R. A. Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clinical Microbiology Reviews*. 1988, 1(2), 187-217.
- FUKUSHIMA, C., H. MATSUSE, S. TOMARI, Y. OBASE, Y. MIYAZAKI, T. SHIMODA a S. KOHNO. Oral candidiasis associated with inhaled corticosteroid use: comparison of fluticasone and beclomethasone. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2003, 90(6), 646-651. ISSN 10811206.
- FÜREDI, P., Z. E. PÁPAY, K. KOVÁCS, B. D. KISS, K. LUDÁNYI, I. ANTAL a I. KLEBOVICH. Development and characterization of the voriconazole loaded lipid-based nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017, 132, 184-189. ISSN 07317085.

- GALLIS, H. A., R. H. DREW a W. W. PICKARD. Amphotericin B: 30 years of clinical experience. *Clinical Infectious Diseases*. 1990, 12(2), 308-329. ISSN 1537-6591.
- GARCIA-EFFRON, G., S. LEE, S. PARK, J. D. CLEARY a D. S. PERLIN. Effect of *Candida glabrata* FKS1 and FKS2 mutations on echinocandin sensitivity and kinetics of 1,3- β -D-Glucan synthase: Implication for the existing susceptibility breakpoint. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009, 53(9), 3690-3699. ISSN 0066-4804.
- GENTRY, L. O., B. ZELUFF a M. A. KIELHOFNER. Dermatologic manifestations of infectious diseases in cardiac transplant patients. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1994, 8(3), 637-54.
- GEORGOPAPADAKOU, N. H., B. A. DIX, S. A. SMITH, J. FREUNDENBERGER, a P. T. FUNKE. Effect of antifungal agents on lipid biosynthesis and membrane integrity in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1987, 31, 46-51.
- GHELARDI, E., G. PICHIERRI, B. CASTAGNA, S. BARNINI, A. TAVANTI a M. CAMPA. Efficacy of Chromogenic *Candida* Agar for isolation and presumptive identification of pathogenic yeast species. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008, 14(2), 141-147. ISSN 1198743X.
- GODEFROI, E. F., J. HEERES, J. VAN CUTSEM, a P. A. J. JANSSEN. The preparation and antimycotic properties of derivatives of 1-phenethylimidazole. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1969, 12, 784- 791.
- GONCALVES, B., C. FERREIRA, C. T. ALVES, M. HENRIQUES, J. AZEREDO a S. SILVA. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Critical Reviews in Microbiology*. 2016, 42(6), 905-927. ISSN 1040-841x.
- GOZALBO, D., C. MURCIANO a M. L. GIL. Immune response to *Candida albicans* Infection. *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier, 2017. ISBN 9780128096338.
- GRAY, L. D. a G. D. ROBERTS. Laboratory diagnosis of systemic fungal diseases. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1988, 2(4), 779-803.
- GUÉHO, E., L. IMPROVISI, G. S. HOOG a B. DUPONT. *Trichosporon* on humans: a practical account. *Mycoses*. 1994, 37(1-2), 3-10. ISSN 09337407.

GUO, S. a J. K. BHATTACHARJEE. Novel lysine biosynthetic gene sequences (LYS1 and LYS5) used as PCR targets for the detection of the pathogenic *Candida* yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006, 72(2), 416-420. ISSN 0175-7598.

HAWSER, S. P., L. J. DOUGLAS. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995, 39(9), 2128-2131.

HEEL, R.C., R. N. BROGDEN, A. CARMINE, P. A. MORLEY, T. M. SPEIGHT a G. S. AVERY. Ketoconazole. *Drugs*. 1982, 23(1-2), 1-36. ISSN 0012-6667.

HEERES, J., R. HENDRICKX, a J. VAN CUTSEM. Antimycotic imidazoles. 6. Synthesis and antifungal properties of terconazole, a novel triazole ketal. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1983, 26, 611-613.

HEIDEMANN, H. T., J. F. GERKENS, W. A. SPICKARD, E. K. JACKSON a R. A. BRANCH. Amphotericin B nephrotoxicity in humans decreased by salt repletion. *The American Journal of Medicine*. 1983, 75(3), 476-481. ISSN 00029343.

HEIMARK, L., P. SHIPKOVA, J. GREENE, H. MUNAYYER, T. YAROSH-TOMAINE, B. DIDOMENICO, R. HARE a B. N. PRAMANIK. Mechanism of azole antifungal activity as determined by liquid chromatographic/mass spectrometric monitoring of ergosterol biosynthesis. *Journal of Mass Spectrometry*. 2002, 37(3), 265-269. ISSN 1076-5174.

HEITMAN, J. Sex in fungi: molecular determination and evolutionary implications. Washington, D.C.: ASM Press, 2007. ISBN 9781555814212.

HELBIG, S., J. M. ACHKAR, N. JAIN, X. WANG, P. GIALANELLA, M. LEVI a B. C. FRIES. Diagnosis and inflammatory response of patients with candiduria. *Mycoses*. 2013, 56(1), 61-69. ISSN 09337407.

HERENT, P., D. STYNEN, F. HERNANDO, J. FRUIT, D. POULAIN. Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992, 30, 2158-2164.

HERNÁNDEZ-ALMANZA, A., J. MONTAÑEZ-SÁENZ, C. MARTÍNEZ-ÁVILA, R. RODRÍGUEZ-HERRERA a C. N. AGUILAR. Carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* YB-252 in solid-state fermentation. *Food Bioscience*. 2014, 7, 31-36. ISSN 22124292.

- HIRANO, R., Y. SAKAMOTO, K. KUDO, M. OHNISHI. Retrospective analysis of mortality and *Candida* isolates of 75 patients with candidemia: a single hospital experience. *Infection and Drug Resistance*. 2015, 8, 199-205.
- HOMEI, A. a M. WORBOYS. Fungal disease in Britain and the United States 1850-2000: mycoses and modernity. Basingstoke: Palgrave Macmillan, 2013. ISBN 9781137377029.
- HUANG, H., L. FAN, B. RAJBANSHI, J. XU a R. L. SCHMIDT. Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: A meta-analysis and systematic review. *PLOS One*. 2015, 10(5), 117-127. ISSN 1932-6203.
- HUONG, T. T., M. KOMÍNKOVÁ, R. GURÁŇ a kol. Identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF MS. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*. 2014, 1(2), 2336-3940.
- CHATWANI, A. J., R. MEHTA, S. HASSAN, S. RAHIMI, S. JERONIS a V. DANDOLU. Rapid testing for vaginal yeast detection: a prospective study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007, 196(4), 309. ISSN 00029378.
- INSELMANN, G, U. INSELMANN a H. T. HEIDEMANN. Amphotericin B and liver function. *European Journal of Internal Medicine*. 2002, 13(5), 288-292. ISSN 09536205.
- ITURRIETA-GONZÁLEZ, I. A., A. C. B. PADOVAN, F. C. BIZERRA, R. C. HAHN, A. L. COLOMBO a D. R. ANDES. Multiple species of *Trichosporon* produce biofilms highly resistant to triazoles and amphotericin B. *PLOS One*. 2014, 9(10), e109553. ISSN 1932-6203.
- JAIN, M. The oral carriage of *Candida* in oral cancer patients of indian origin undergoing radiotherapy and/or chemotherapy. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2016, 10(2), 17-20. ISSN 2249782x.
- JEU, L. A., F. J. PIACENTI, A. G. LYAKHOVETSKIY a H. B. FUNG. Voriconazole. *Clinical Therapeutics*. 2003, 25(5), 1321-1381. ISSN 01492918.
- JOHNSON, L. B. a C. A. KAUFFMAN. Voriconazole: A new triazole antifungal agent. *Clinical Infectious Diseases*. 2003, 36(5), 630-637. ISSN 1058-4838.
- JORDAN, W. M., G. P. BODEY, V. Rodriguez, S. J. KETCHEL, J. HENNEY. Miconazole therapy for treatment of fungal infections in cancer patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1979, 16(6), 792-797.

- JUNG, S. H., D. H. LIM, S. H. JUNG, J. E. LEE, K. JEONG, H. SEONG a B. C. SHIN. Amphotericin B-entrapping lipid nanoparticles and their in vitro and in vivo characteristics. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, 37(3-4), 313-320. ISSN 09280987.
- KAUFFMAN, C. A., J. A. VAZQUEZ, J. D. SOBEL a kol. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2000, 30(1), 14-18. ISSN 1058-4838.
- KAUR, I. P. a S. KAKKAR. Topical delivery of antifungal agents. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2010, 7(11), 1303-1327. ISSN 1742-5247.
- KAZEMI, A., M. FALAHATI, A. HAJIPOOR, A. JAFARI a M. ASGHAR ZADEH. Comparison of Phenotypic Tests and PCR to detect *Candida albicans* from vaginal specimens (Tabriz, 2009-2010). *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2013, 6(2), 122-126. ISSN 2008-3645.
- KHAWCHAROENPORN, T., A. APISARNTHANARAK a L. M. MUNDY. Non-neoformans cryptococcal infections: a systematic review. *Infection*. 2007, 35(2), 51-58. ISSN 0300-8126.
- KHLIF, M., C. MARY, H. SELLAMI a kol. Evaluation of nested and real-time PCR assays in the diagnosis of candidaemia. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15(7):656-661.
- KHOT, P. D. a D. N. FREDRICKS. PCR-based diagnosis of human fungal infections. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2014, 7(10), 1201-1221. ISSN 1478-7210.
- KNOP, M. Yeast cell morphology and sexual reproduction – A short overview and some considerations. *Comptes Rendus Biologies*. 2011, 334(8-9), 599-606. ISSN 16310691.
- KOO, S., J. M. BRYAR, J. H. PAGE, L. R. BADEN a F. M. MARTY. Diagnostic performance of the (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, 49, 1650-1659.
- KOPECKÁ, J., D. MATOULKOVÁ a M. NĚMEC. Yeast and its uses. *Kvasny Prumysl*. 2012, 58(11), 326-335. ISSN 00235830.

- KOZEL, T. R. a E. C. GOTSCHLICH. The capsule of *Cryptococcus neoformans* passively inhibits phagocytosis of the yeast by macrophages. *The Journal of Immunology*. 1982, 129(4), 1675-1680.
- KRAUSE, D. S., J. REINHARDT, J. A. VAZQUEZ, A. REBOLI, B. P. GOLDSTEIN, M. WIBLE a T. HENKEL. Phase 2, randomized, dose-ranging study evaluating the safety and efficacy of anidulafungin in invasive candidiasis and candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004, 48(6), 2021-2024. ISSN 0066-4804.
- KRYSAN, D. J., F. S. SUTTERWALA, M. WELLINGTON a W. E. GOLDMAN. Catching fire: *Candida albicans*, macrophages, and pyroptosis. *PLOS Pathogens*. 2014, 10(6), e1004139.
- KUHN, D. M, J. CHANDRA, P. K. MUKHERJEE a M. A. GHANNOUM. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infection and Immunity*. 2002, 70(2), 878-888.
- KUMAMOTO, C. A. a M. D. VINCES. Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cellular Microbiology*. 2005, 7(11), 1546-1554. ISSN 14625814.
- KUMAMOTO, C. A. *Candida* biofilms. *Current Opinion in Microbiology*. 2002, 5(6), 608-611. ISSN 13695274.
- KVAAL, C., S. A. LACHKE, T. SRIKANTHA, K. DANIELS, J. MCCOY, D. R. SOLL. Misexpression of the opaque-phase-specific gene PEP1 (SAP1) in the white phase of *Candida albicans* confers increased virulence in a mouse model of cutaneous infection. *Infection and Immunity*. 1999, 67(12), 6652-6662.
- LASS-FLÖRL, C., M. C. ARENDRUP, J. L. RODRIGUEZ-TUDELA, M. CUENCA-ESTRELLA, P. DONNELLY a W. HOPE. EUCAST Technical note on Amphotericin B. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011, 17(12), 27-29. ISSN 1198743x.
- LI, H., H. DU, W. LIU, Z. WAN a R. LI. Microbiological characteristics of medically important *Trichosporon* species. *Mycopathologia*. 2005, 160(3), 217-225. ISSN 0301-486x.
- LI, S. S. a C. H. MODY. *Cryptococcus*. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2010, 7(3), 186-196. ISSN 1546-3222.

- LO RE, V., N. O. FISHMAN a I. NACHAMKIN. Recurrent catheter-related *Rhodotorula rubra* infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2003, 9(8), 897-900. ISSN 1198743x.
- LOCKHART, S. R. Increased virulence and competitive advantage of a/alpha over a/a or alpha/alpha offspring conserves the mating system of *Candida albicans*. *Genetics*. 2005, 169(4), 1883-1890. ISSN 0016-6731.
- LOCKHART, S. R., K. A. ETIENNE, S. VALLABHANENI a kol. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clinical Infectious Diseases*. 2017, 64(2), 134-140. ISSN 1058-4838.
- LOONEN, A. J. M., M. P. BOS, B. VAN MEERBERGEN a kol. Comparison of pathogen DNA isolation methods from large volumes of whole blood to improve molecular diagnosis of bloodstream infections. *PLOS One*. 2013, 8(8), e72349. ISSN 1932-6203.
- LOOSE, D. S., P. B. KAN, M. A. HIRST, R. A. MARCUS a D. FELDMAN. Ketoconazole blocks adrenal steroidogenesis by inhibiting cytochrome P450-dependent enzymes. *Journal of Clinical Investigation*. 1983, 71(5), 1495-1499.
- LOURIA, D. B., R. G. BRAYTON a G. FINKEL. Studies on the pathogenesis of experimental *Candida albicans* infections in mice. *Medical Mycology*. 1963, 2(4), 271-283. ISSN 1369-3786.
- LOW, C. a C. ROTSTEIN. Emerging fungal infections in immunocompromised patients. *F1000 Medicine Reports*. 2011, 3, 14. ISSN 17575931.
- LOYSE, A., A. MOODLEY, P. RICH, a kol. Neurological, visual, and MRI brain scan findings in 87 South African patients with HIV-associated cryptococcal meningoencephalitis. *Journal of Infection*. 2015, 70(6), 668-675. ISSN 01634453.
- LUNARDI, L. W., V. R. AQUINO, R. A. ZIMERMAN a L. Z. GOLDANI. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* fungemia in a tertiary care hospital. *Clinical Infectious Diseases*. 2006, 43(6), 60. ISSN 1058-4838.
- MAGIATIS, P., P. PAPPAS, G. GAITANIS a kol. *Malassezia* yeasts produce a collection of exceptionally potent activators of the ah (Dioxin) receptor detected in diseased human skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 2013, 133(8), 2023-2030. ISSN 0022202x.

- MAHNSS, B., F. STEHR, W. SCHÄFER, K. NEUBER. Comparison of standard phenotypic assays with a PCR method to discriminate *Candida albicans* and *C. dubliniensis*. *Mycoses*. 2005, 48(1), 55-61.
- MALHOTRA, S., A. KHARE, K. GROVER, I. SINGH a P. PAWAR. Design and evaluation of voriconazole eye drops for the treatment of fungal keratitis. *Journal of Pharmaceutics*. 2014, 2014, 1-9. ISSN 2090-9918.
- MARR, K. A. Fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Medical Mycology*. 2008, 46(4), 293-302.
- MARTY, F. M., C. M. LOWRY, S. J. LEMPITSKI, D. W. KUBIAK, M. A. FINKELMAN, L. R. BADEN. Reactivity of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay with commonly used intravenous antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006, 50, 3450-3453.
- MATOS, C. S., A. SOUZA ANDRADE, N. S. OLIVEIRA a T. F. BARROS. Microbiological characteristics of clinical isolates of *Cryptococcus* spp. in Bahia, Brazil: molecular types and antifungal susceptibilities. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2012, 31(7), 1647-1652. ISSN 0934-9723.
- MAYER, F. L., D. WILSON a B. HUBE. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2014, 4(2), 119-128.
- MAZABREY, D., J. NADAL, J. SEGUELA a M. LINAS. Scanning and transmission electron microscopy: study of effects of econazole on *Microsporium canis*. *Mycopathologia*. 1985, 91, 151-157.
- MCDONALD, T., D. L. WIESNER a K. NIELSEN. *Cryptococcus*. *Current Biology*. 2012, 22(14), 554-555. ISSN 09609822.
- MCFADDEN, D., O. ZARAGOZA a A. CASADEVALL. The capsular dynamics of *Cryptococcus neoformans*. *Trends in Microbiology*. 2006, 14(11), 497-505. ISSN 0966842x.
- MERZ, W. G. a G. D. ROBERTS. Detection and recovery of fungi from clinical specimens. P. R. Murray, E. J. BARON, M. A. PFALLER, F. C. TENOVER, R. H. YOLKEN, eds. *Manual of clinical microbiology*. American Society for Microbiology. 1995, 709–722.
- MESSER, S. A., D. J. DIEKEMA, L. BOYKEN, S. TENDOLKAR, R. J. HOLLIS a M. A. PFALLER. Activities of micafungin against 315 invasive clinical isolates of fluconazole-

- resistant *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006, 44(2), 324-326. ISSN 0095-1137.
- METWALLY, L., D. J. FAIRLEY, P. V. COYLE a kol. Comparison of serum and whole-blood specimens for the detection of *Candida* DNA in critically ill, non-neutropenic patients. *Journal of Medical Microbiology*. 2008, 57, 1269-1272.
- MILNE, L. J. A clinical study of econazole cream in the treatment of fungal skin infections. *The Journal of the Royal College of General Practitioners*. 1982, 32(239), 360-364.
- MIYAZAKI, T., S. KOHNO, K. MITSUTAKE a kol. Plasma (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995, 33, 3115-3118.
- MONIF, G. R. a D. A. BAKER. *Candida albicans*. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 2003, 5, 405–421.
- MORACE, G., F. PERDONI a E. BORGHI. Antifungal drug resistance in *Candida* species. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2014, 2(4), 254-259. ISSN 22137165.
- MUKAREMERA, L., K. K. LEE, H. M. MORA-MONTES a N. A. R. GOW. *Candida albicans* yeast, pseudohyphal, and hyphal morphogenesis differentially affects immune recognition. *Frontiers in Immunology*. 2017, 8, 629. ISSN 1664-3224.
- MUNOZ, P., J. GUINEA, L. ROJAS a E. BOUZA. New antifungal agents for the treatment of candidaemia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010, 36, 63-69. ISSN 09248579.
- MUZUROVIC, S., E. BABAJIC, T. MASIC, R. SMAJIC, A. SELAMANAGIC. The relationship between oral hygiene and oral colonisation with *Candida* species. *Medical Archives*. 2012, 66(6), 415-417.
- NISHIMURA, M., H. NIKAWA, H. YAMASHIRO, T. HAMADA, G. EMBERY. Cell-associated collagen activity by *Candida albicans*. *Mycopathologia*. 2002, 153, 125-128
- NOHMI, T., S. ABE, K. DOBASHI, S. TANSO a H. YAMAGUCHI. Suppression of anti-*Candida* activity of murine neutrophils by progesterone in vitro: a possible mechanism in pregnant women's vulnerability to vaginal candidiasis. *Microbiology and Immunology*. 1995, 39, 405–409.

- NOVOTNA, A., M. KORHONOVA, I. BARTONKOVA a kol. Enantiospecific effects of ketoconazole on aryl hydrocarbon receptor. *PLOS One*. 2014, 9(7), e101832. ISSN 1932-6203.
- Nucci, M. a K. A. Marr. Emerging fungal infections. *Clinical Infectious Diseases*. 2005; 41, 521–526.
- ODABASI, Z., G. MATTIUZZI, E. ESTEY a kol. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clinical Infectious Diseases*. 2004, 39(2), 199-205.
- ODDS, F. C. *Candida* and candidosis. London: Baillière Tindall, 1988.
- ODDS, F. C., A. B. ABBOTT, G. PYE a P. F. TROKE. Improved method for estimation of azole antifungal inhibitory concentrations against *Candida* species, based on azole/antibiotic interactions. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 1986, 24, 305-311.
- ODDS, F.C. Sabouraud('s) agar. *Medical Mycology*. 1991, 29(6), 355-359. ISSN 1369-3786.
- OFFNER, F., V. KRČMERY, M. BOOGAERTS a kol. Liposomal nystatin in patients with invasive aspergillosis refractory to or intolerant of amphotericin B. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004, 48(12), 4808-4812. ISSN 0066-4804.
- OKULICZ, J. F., R. G. RIVARD, N. G. CONGER, M. X. NGUYEN a D. R. HOSPENTHAL. Primary isolation of *Candida* species from urine specimens using chromogenic medium. *Mycoses*. 2008, 51(2), 141-146. ISSN 0933-7407.
- OLIVERI, S., L. TROVATO, P. BETTA, M. G. ROMEO a G. NICOLETTI. Experience with the Platelia *Candida* ELISA for the diagnosis of invasive candidosis in neonatal patients. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008, 14(4), 391-393. ISSN 1198743X.
- OTČENÁŠEK, M. Vyšetřovací metody při mykotických onemocněních. Praha: Avicenum, 1990. ISBN 8020100598.
- OUDE LASHOF, A. M. L., J. D. SOBEL, M. RUHNKE, P. G. PAPPAS, C. VISCOLI, H. T. SCHLAMM, J. H. REX a B. J. KULLBERG. Safety and tolerability of voriconazole in patients with baseline renal insufficiency and candidemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012, 56(6), 3133-3137. ISSN 0066-4804.

- OZ, Y. a N. KIRAZ. Diagnostic methods for fungal infections in pediatric patients: microbiological, serological and molecular methods. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2011, 9(3), 289-298. ISSN 1478-7210.
- PALKOVÁ, Z. a L. VÁCHOVÁ. Yeast cell differentiation: Lessons from pathogenic and non-pathogenic yeasts. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2016, 57, 110-119. ISSN 10849521.
- PATEL, P. N., P. SAH, C. CHANDRASHEKAR, S. VIDYASAGAR, J. VENKATA RAO, M. TIWARI a R. RADHAKRISHNAN. Oral candidal speciation, virulence and antifungal susceptibility in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2017, 125, 10-19. ISSN 01688227.
- PATTERSON, T. F., G. R. THOMPSON, D. W. DENNING a kol. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2016, 63(4), 1-60. ISSN 1058-4838.
- PEDROSA, A. F., C. LISBOA a A. G. RODRIGUES. *Malassezia* infections: A medical conundrum. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2014, 71(1), 170-176. ISSN 01909622.
- PFALLER, M. A., P. R. RHOMBERG, S. A. MESSER, R. N. JONES a M. CASTANHEIRA. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2015, 82(4), 303-313. ISSN 07328893.
- PICKERING, J. W., H. W. SANT, C. A. BOWLES, W. L. ROBERTS, G. L. WOODS. Evaluation of a (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005, 43, 5957-5962.
- PLEMPEL, M. On the action kinetics of clotrimazole. *Chemotherapy*. 1982, 28(1), 22-31.
- PLEMPEL, M. Pharmacokinetics of imidazole antimycotics. *Postgraduate Medical Journal*. 1979, 55(647), 662-666. ISSN 0032-5473.
- PONT, A. High-dose ketoconazole therapy and adrenal and testicular function in humans. *Archives of Internal Medicine*. 1984, 144(11), 2150. ISSN 0003-9926.

- RACIL, Z., I. KOČMANOVÁ, M. LENGEROVÁ a kol. Difficulties in using 1,3- β -D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies-high frequency of false-positive results and their analysis. *Journal of Medical Microbiolog.* 2010, 59, 1016-1022.
- RAJENDRAN, R. a B. SIVAPATHASUNDHARAM. Shafer's textbook of oral pathology. Seventh edition. 2012. ISBN 9788131238004.
- RAMAGE, G., K. VANDE WALLE, B. L. WICKES a J. L. LOPEZ-RIBOT. Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. *Journal of Clinical Microbiology.* 2001, 39(9), 3234. ISSN 0095-1137.
- RAO, D. S., A. GHOSH, S. SINGHI, A. CHAKRABARTI. Mannan antigen detection in the diagnosis of patients with invasive candidiasis. *Indian Journal of Medical Research.* 2002, 116, 13-20. ISSN 09715916.
- REISS, E. a C. J. MORRISON. Nonculture methods for diagnosis of disseminated candidiasis. *Clinical Microbiology Reviews.* 1993, 6(4), 311-323.
- RESTREPO, A., D. S. STEVENS, a J. P. UTZ. First international symposium on ketoconazole. *Reviews of Infectious Diseases.* 1980, 2, 519-562.
- RIPPON, J. W., 'Symposium on medical mycology'. The *Fusaria* is a genus of soil-borne fungi, most of which are harmless, but some are well known to cause wilt in plants. Quorn, a meat-like product recommended for vegetarians, is produced from *Fusarium venenatum*. *Mycopathologia.* 1987, 99, 144.
- ROBINSON, R. K. a C. A. BATT. Encyclopedia of food microbiology. San Diego: Academic Press, 2000. ISBN 9780080523590.
- SAMARANAYAKE, L. P. a T. W. MACFARLANE. The effect of dietary carbohydrates on the in-vitro adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. *Journal of Medical Microbiology.* 1982, 15(4), 511-517. ISSN 0022-2615.
- SAMARANAYAKE, L. P., J. MCCOURTIE a T. W. MACFARLANE. Factors affecting the in-vitro adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Archives of Oral Biology.* 1980, 25(8-9), 611-615. ISSN 00039969.
- SANDVEN P., J. LASSEN. Importance of selective media for recovery of yeasts from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology.* 1999, 37(11), 3731-3732.

- SAWYER, P. R., R. N. BROGDEN, R. M. PINDER, T. M. SPEIGHT, G. S. AVERY. Miconazole: a review of its antifungal activity and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1975, 9(6), 406-423.
- SCADUTO, C. M a R. J. BENNETT. *Candida albicans* the chameleon: transitions and interactions between multiple phenotypic states confer phenotypic plasticity. *Current Opinion in Microbiology*. 2015, 26, 102-108. ISSN 13695274.
- SENDID, B., M. TABOURET, J. L. POIROT, D. MATHIEU, J. FRUIT, D. POULAIN. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, 37(5), 1510-1517.
- SENN, L., J. O. ROBINSON, S. SCHMIDT a kol. 1,3-B-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clinical Infectious Diseases*. 2008, 46(6), 878-885. ISSN 1058-4838.
- SHADOMY, S. In vitro antifungal activity of clotrimazole. *Infection and Immunity*. 1971, 4, 143-148.
- SHERWOOD, R. K. a R. J. BENNETT. Fungal meiosis and parasexual reproduction—lessons from pathogenic yeast. *Current Opinion in Microbiology*. 2009, 12(6), 599-607. ISSN 13695274.
- SCHWARTZ, S., D. P. KONTOYIANNIS, T. HARRISON a M. RUHNKE. Advances in the diagnosis and treatment of fungal infections of the CNS. *The Lancet Neurology*. 2018, 17(4), 362-372. ISSN 14744422.
- SOBEL, J. D. a R. A. AKINS. The role of PCR in the diagnosis of *Candida* vulvovaginitis—a new gold standard?. *Current Infectious Disease Reports*. 2015, 17(6), 488. ISSN 1523-3847.
- SOBEL, J. D. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2016, 214(1), 15-21. ISSN 00029378.
- SOBEL, J. D., C. A. KAUFFMAN, D. MCKINSEY a kol. Candiduria: A randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. *Clinical Infectious Diseases*. 2000, 30(1), 19-24. ISSN 1058-4838.

- SONINO, N., M. BOSCARO, A. PAOLETTA, F. MANTERO a D. ZILLOTTO. Ketoconazole treatment in Cushing's syndrome: experience in 34 patients. *Clinical Endocrinology*. 1991, 35(4), 347-352. ISSN 0300-0664.
- STAIB, P. a J. MORSCHHÄUSER. Chlamyospore formation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*--an enigmatic developmental programme. *Mycoses*. 2007, 50(1), 1-12. ISSN 0933-7407.
- STONE, J. A., S. D. HOLLAND, P. J. WICKERSHAM a kol. Single and multiple-dose pharmacokinetics of caspofungin in healthy men. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002, 46(3), 739-745. ISSN 0066-4804.
- STRICKER, B. H., A. P. BLOK, F. B. BRONKHORST, G. E. VAN PARYS, V. J. DESMET. Ketoconazole-associated hepatic injury. A clinicopathological study of 55 cases. *Journal of Hepatology*. 1986, 3(3), 399-406.
- SUDBERY, P. E. Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*. 2011, 9(10), 737-748. ISSN 1740-1526.
- SUDBERY, P., N. GOW a J. BERMAN. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*. 2004, 12(7), 317-324. ISSN 0966842x.
- SYMOENS, J. Clinical and experimental evidence on miconazole for the treatment of systemic mycoses: a review. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1977, 70(1), 4-8.
- ŠPAČEK, J., V. BUCHTA, P. JÍLEK a M. FÖRSTL. Clinical aspects and luteal phase assessment in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2007, 131(2), 198-202. ISSN 03012115.
- TAJ-ALDEEN, S. J., N. AL-ANSARI, S. EL SHAFEI, J. F. MEIS, I. CURFS-BREUKER, B. THEELEN a T. BOEKHOUT. Molecular identification and susceptibility of *Trichosporon* species isolated from clinical specimens in Qatar: Isolation of *Trichosporon dohaense* Taj-Aldeen, Meis & Boekhout sp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009, 47(6), 1791-1799. ISSN 0095-1137.
- THIENPONT, D., J. VAN CUTSEM, J. M. VAN NUETEN, C. J. E. NIEMEGEREERS a R. Marsboom. Biological and toxicological properties of econazole, a broad-spectrum antimycotic. *Arzneimittel Forschung*. 1975, 25, 224-230.

- THOMAS, P. A., P. A TERESA, J. THEODORE a P. GERALDINE. PCR for the molecular diagnosis of mycotic keratitis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2014, 12(7), 703-718. ISSN 1473-7159.
- THOMPSON, D. S., P. L. CARLISLE a D. KADOSH. Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryotic Cell*. 2011, 10(9), 1173-1182. ISSN 1535-9778.
- THOMSON, P., L. LÓPEZ-FERNÁNDEZ, J. GUARRO a J. CAPILLA. Virulence and antifungal therapy of murine disseminated infection by *Rhodotorula mucilaginosa*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2017, 89(1), 47-51. ISSN 07328893.
- TOLMAN, E. L., D. M. ISAACSON, M. E. ROSENTHALE a kol. Anticandidal activities of terconazole, a broad-spectrum antimycotic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1986, 29(6), 986-991.
- TROKE, P. F., A. S. BELL, R. P. DICKINSON, C. A. HITCHCOCK, S. JAZEQUEL, S. NARAYANASWAMI, S. J. RAY, K. RICHARDSON. Abstracts of the 35th interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy. Washington, D.C.: UK-109,496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: discovery and antifungal properties. *American Society for Microbiology*. 1995, 70, 125.
- TSANG, C. S. P., F. C. S. CHU, W. K. LEUNG, L. J. JIN, L. P. SAMARANAYAKE a S. C. SIU. Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medical Microbiology*. 2007, 56(10), 1393-1398. ISSN 0022-2615.
- TSUI, C., E. F. KONG, M. A. JABRA-RIZK a H. MOBLEY. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathogens and Disease*. 2016, 74(4), 18. ISSN 2049-632x.
- UTZ, J. P. New drugs for the systemic mycoses: flucytosine and clotrimazole. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*. 1975, 51(9), 1103-1108.
- VALENZA, G., J. STRASEN, F. SCHAFER, M. FROSCH, O. KURZAI a M. ABELE-HORN. Evaluation of new colorimetric Vitek 2 yeast identification card by use of different source media. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008, 46(11), 3784-3787. ISSN 0095-1137.
- VAN CUTSEM, J., F. VAN GERVEN, R. ZAMAN, a P. A. J. JANSSEN. Terconazole-a new, broad-spectrum antifungal. *Chemotherapy*. 1983, 29, 322-331.

- VAN DER POL, B. Diagnosing vaginal infections: It's time to join the 21st century. *Current Infectious Disease Reports*. 2010, 12(3), 225-230. ISSN 1523-3847.
- VELEGRAKI, A., C. CAFARCHIA, G. GAITANIS, R. IATTA, T. BOEKHOUT a J. HEITMAN. *Malassezia* infections in humans and animals: Pathophysiology, detection, and treatment. *PLOS Pathogens*. 2015, 11(1), e1004523. ISSN 1553-7374.
- VIRGILI, A., M. R. ZAMPINO a L. MANTOVANI. Fungal skin infections in organ transplant recipients. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2002, 3(1), 19-35. ISSN 1175-0561.
- WÄCHTLER, B., D. WILSON a B. HUBE. *Candida albicans* adhesion to and invasion and damage of vaginal epithelial cells: Stage-specific inhibition by clotrimazole and bifonazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011, 55(9), 4436-4439. ISSN 0066-4804.
- WANG, Q.-M., B. THEELEN, M. GROENEWALD, F.-Y. BAI a T. BOEKHOUT. *Moniliellomycetes* and *Malasseziomycetes*, two new classes in *Ustilaginomycotina*. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 2014, 33(1), 41-47. ISSN 00315850.
- WATANABE, T., A. YASUOKA, J. TANUMA a kol. Serum (1 \rightarrow 3) β -D-glucan as a noninvasive adjunct marker for the diagnosis of *Pneumocystis* pneumonia in patients with AIDS. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, 49, 1128-1131.
- WEINER, M. H., M. COAST-STEPHEN. Immunodiagnosis of systemic candidiasis: Mannan antigenemia detected by radioimmunoassay in experimental and human infections. *The Journal of Infectious Diseases*. 1979, 140, 989-993.
- WEISSENBACHER, T., S. S. WITKIN, W. J. LEDGER a kol. Relationship between clinical diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis and detection of *Candida* species by culture and polymerase chain reaction. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2009, 279(2), 125-129. ISSN 0932-0067.
- WIESER, A., L. SCHNEIDER, J. JUNG a S. SCHUBERT. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012, 93(3), 965-974. ISSN 0175-7598.

- WILLIAMS, D. W. a M. LEWIS. Oral Microbiology: Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. *Oral Diseases*. 2000, 6(1), 3-11. ISSN 1354523X.
- WILLIAMSON, P. R., J. N. JARVIS, A. A. PANACKAL, M. C. FISHER, S. F. MOLLOY, A. LOYSE a T. S. HARRISON. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. *Nature Reviews Neurology*. 2017, 13(1), 13-24. ISSN 1759-4758.
- WONG-BERINGER, A., R. A. JACOBS a B. J. GUGLIELMO. Lipid formulations of amphotericin B: Clinical efficacy and toxicities. *Clinical Infectious Diseases*. 1998, 27(3), 603-618. ISSN 1058-4838.
- YOSHIDA, M., T. OBAYASHI, A. IWAMA, M. ITO, S. TSUNODA, T. SUZUKI, K. MUROI, M. OHTA, S. SAKAMOTO, Y. MIURA. Detection of plasma (1–3)-beta-D-glucan in patients with *Fusarium*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, and *Acremonium fungaemias*. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 1997, 35, 371–374.
- YU, S., X. CHAI, Y. WANG a kol. Triazole derivatives with improved in vitro antifungal activity over azole drugs. *Drug Design, Development and Therapy*. 2014, 8, 383-390. ISSN 1177-8881.
- ZAAS, A. K., M. BOYCE, W. SCHELL, B. A. LODGE, J. L. MILLER, J. R. PERFECT. Risk of fungemia due to *Rhodotorula* and antifungal susceptibility testing of *Rhodotorula* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003, 41(11), 5233-5235.
- ZAKOUT, Y. M.-A., M. M. SALIH a H. G. AHMED. Frequency of *Candida* species in Papanicolaou smears taken from Sudanese oral hormonal contraceptives users. *Biotechnic*. 2012, 87(2), 95-97. ISSN 10520295.
- ZOMORODIAN, K., F. KAVOOSI, G. R. PISHDAD, P. MEHRIAR, H. EBRAHIMI, A. BANDEGANI a K. PAKSHIR. Prevalence of oral *Candida* colonization in patients with diabetes mellitus. *Journal de Mycologie Médicale*. 2016, 26(2), 103-110. ISSN 11565233.