

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-
TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Zdeňka Jakoubková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Candida auris
Bakalářská práce

2024

Zdeňka Jakoubková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Zdeňka Jakoubková**
Osobní číslo: **C19650**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: ***Candida auris***
Téma práce anglicky: ***Candida auris***
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši popisující patogenní kvasinku *Candida auris*. Zaměřte se na klinické projevy, diagnostiku a terapii.
2. Věnujte se epidemiologickému výskytu a celosvětovému šířením tohoto nového patogenu.
3. Seznamte se zajímavými kazuistikami, porovnejte situaci v ČR i zahraničí.
4. Literární zdroje čerpejte zejména z databází WOS a Medline i dat SZÚ.
5. Bakalářskou práci zpracujte dle směrnice Univerzity Pardubice upravující formální zpracování závěrečných prací.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

Prohlašuji:

Práci s názvem *Candida auris* jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 09. 04. 2024

Zdeňka Jakoubková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala paní doc. Ing. Marcele Pejchalové Ph.D. za odborné rady a vedení práce. Poděkování patří také paní MUDr. Lzičařové z FN Motol, nejbližší rodině a přátelům, kteří mi byli oporou.

ANOTACE

Candida auris, zákeřná kvasinka, která způsobuje závažná onemocnění kandidózu, a je strašákem pro řadu nemocnic i pacientů. Byla diagnostikována poměrně nedávno i tak se za krátkou dobu rozšířila po celém světě. Její nebezpečí tkví v náročné a nákladné diagnostice a léčbě. Jedná se o velmi rezistentní kvasinku, která často postihne pacienta jako sekundární infekce.

KLÍČOVÁ SLOVA

Candida auris, kvasinka, rezistentní, kandidóza, invazivní, imunosuprese

TITLE

Candida auris

ANNOTATION

Candida auris is an insidious yeast that causes serious candidiasis diseases and is a nightmare for many hospitals and patients. It was diagnosed quite recently and spread all over the world in a short time. Its danger lies in demanding and expensive diagnosis and treatment. This is a very resistant yeast that often affects the patient as a secondary infection.

KEYWORDS

Candida auris, candida, resistant, candida infections, invasive, imunosupresi

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM TABULEK	10
SEZNAM ZKRATEK	11
ÚVOD	12
1. Rod <i>Candida</i>	13
1.1. <i>Candida albicans</i>	14
1.2. <i>Candida krusei</i>	14
1.3. <i>Candida tropicalis</i>	15
2. Genetika	16
3. Epidemiologie a ohniska nákazy	18
3.1. Indie – Dillí.....	19
3.2. Evropa.....	19
3.3. Severní Itálie	22
3.4. Rumunsko	23
3.5. Polsko.....	23
3.6. Německo	24
3.7. Vietnam.....	26
4. Patogenita	27
4.1. Biofilm.....	28
4.2. Adherence	29
4.3. Morfologické přepínání	29
5. Onemocnění	30
6. Rezistence	31
6.1. Mutace antimykotických cílových genů	32
6.2. Export antimykotik z buňky	33
6.3. Nadměrná exprese antifugálního cíle	34
6.4. Biofilm.....	34

7. Diagnostika	35
7.1. Kandidový antigen mannan	35
7.2. CHROMagar™ Candida Plus	35
7.3. MALDI – TOF MS	36
8. Terapie	38
8.1. Azoly	38
8.2. Echinokandiny	39
8.3. Polyeny	39
8.4. Flucytosin a Griseofulvin	39
8.5. Výzkum nových látek	40
8.6. Dezinfekce a <i>Candida auris</i>	41
8.6.1. Chlorhexidin	41
8.6.2. Prostředky na alkoholové bázi	41
8.6.3. Další prostředky	41
8.7. Ultrafialové záření a inaktivace <i>Candida auris</i>	42
9. Kazuistiky	43
9.1. První případ	43
9.2. Covid – 19 a <i>Candida auris</i>	43
9.3. První případ v České republice	44
9.4. Kontakt <i>Candida auris</i> s hostitelem	45
ZÁVĚR	49
POUŽITÁ LITERATURA	50

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 - Mapa nákazy za rok 2018 (Cortegiani A, et al., 2018).....	19
Obrázek 2 - Rozložení importovaných nákaz (Plachouras D, et. al., 2020).....	20
Obrázek 3 - Stádium šíření <i>Candida auris</i> (Kohlenberg A, et. al., 2022).....	21
Obrázek 4 - Incidence případů v období července 2019 do prosince 2022 (Sticchi et. al, 2023)	22
Obrázek 5 – Klinický průběh pacientů sledovaných pacientů (Hinrichs C., et. al, 2022).....	24
Obrázek 6 - Morfologické přepínání (Du H, et. al., 2020.)	29
Obrázek 7 - Mechanismy rezistence (Tu J, et. al., 2022)	31
Obrázek 8 - Ředění antimykotik (Prasetyoputri A, et. al., 2019)	33
Obrázek 9 - Zobrazuje barevný růst kolonií rodu <i>Candida</i> a detailní kolonie <i>Candida auris</i> (Andrew M Borman, et. al., 2021).....	36
Obrázek 10 - Znázorňuje stanovení MALDI – TOF MS včetně následných kroků (Hou TY, et. al., 2019)	36
Obrázek 11 - Popis cesty jednotlivých vzorků při stanovení MALDI – TOF MS (Hou TY, et. al., 2019)	37
Obrázek 12 - Schéma infekce ran <i>Candida auris</i> a <i>Candida albicans</i> (Seiser S et. al, 2024) ...	45
Obrázek 13 - Snímky z mikroskopů – lidská kůže (Seiser S et. al., 2024).....	46
Obrázek 14 - Snímky z mikroskopů – fetální kůže (Seiser S et. al, 2024.).....	47
Obrázek 15 - Snímky z mikroskopů – myší kůže (Seiser S et. al., 2024)	48

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Hodnoty minimální inhibiční koncentrace v mg/l.....	44
---	----

SEZNAM ZKRATEK

EU/EHP	Evropská unie a Evropský hospodářský prostor
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MALDI TOF MS	Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice
ABC	ATP –binding cassette– Soubor transportních proteinů využívající ATP
MFS	Major facilitator superfamily – Hlavní pomocný transportní protein
XDR	Extrémní léková rezistence

ÚVOD

Candida auris je kvasinka, která je původcem závažných infekcí krevního řečiště. Rizikovou skupinu tvoří dlouhodobě hospitalizovaní pacienti s centrálními katetry, popřípadě opakovanou léčbou pomocí antimykotik a antibiotik. Nebezpečí infekce *Candida auris* tkví v rezistenci proti řadě léčiv, obtížné identifikaci standartními laboratorními metodami a snadnému přenosu.

Cílem práce je seznámit čtenáře s touto zrádnou kvasinkou *Candida auris*. Práce se zabývá základní morfologií rodu, genetikou a jejím přenosem. Přibližuje rizika onemocnění, problematiku rezistencí, diagnostiky v laboratoři, léčby a kazuistik

1. Rod *Candida*

Rod *Candida* je nejčastěji izolovaná kvasinka z biologického materiálu a původce mykotických infekcí. Jsou to organismy se schopností fermentace, díky nichž získaly svůj název. Produkty anaerobního štěpení jsou bohatě využívány v mnoha odvětvích od výroby pečiva, piva, vína a mléčných produktů až po biotechnologické procesy nebo likvidace odpadních materiálů (Kolářová, 2020).

„Kvasinky jsou oportunní patogen člověka“, v malém zastoupení jsou běžnou součástí mikroflóry. Patogenita závisí na celkovém stavu a na schopnostech imunitního systému. V zásadě platí, že kvasinková infekce se uchytí a propukne za vhodných predisponovaných podmínek, z toho vyplývá, že u zdravého člověka mají kvasinky minimální šanci. (Votava, 2003) K propuknutí onemocnění dochází hlavně u osob se sníženou obranyschopností, v případech, kdy je porušena slizniční bariéra nebo u osob, kterým byly podávány dlouhodobě širokospektrá antibiotika, která způsobila porušení rovnováhy mikroflóry. U hospitalizovaných pacientů může docházet k nákaze nozokomiálním patogenem díky přenosu z kontaminovaného materiálu nebo od zdravotnického personálu (Kolářová, 2020).

V mikroskopických preparátech se kvasinky jeví jako kulovité až protáhlé buňky, které často pučí. Dle Grama jsou kvasinky barveny pozitivně, fialovo-modře, díky stavbě buněčné stěny. (Cristina ML et. al., 2023) Při laboratorní diagnostice se využívá kultivace na Sabouraudově agaru s antibiotiky, pro potlačení růstu ostatních bakterií. V dnešní době je nejpřesnější a časově nejrychlejší určení pomocí hmotnostní spektrometrie (MALDI–TOF MS). Schopnost kvasinek zpracovat sacharidy se nevyužívá jen v průmyslu, ale i k diagnostice v laboratoři. S tímto principem se setkáme u chromogenních pěstí a biochemický souprav (Kolářová, 2020).

Kvasinky způsobují slizniční (kožní) a systémové mykózy. Nejznámější formou slizniční mykózy je moučnivka, tzv. soor, a vaginální infekce. Projevem systémové infekce je kandidémie. Hlavním charakteristickým znakem je přítomnost kvasinek v krevním oběhu. Zejména u imunosuprimovaných a hematologických pacientů se může jednat o stav ohrožující na životě. Mohou být postiženy vnitřní orgány – játra, slezina, centrální nervový systém a srdce. Klinické příznaky jsou často nespecifické a později mohou převažovat komplikace vnitřních orgánů. Příznaky se mohou projevit i na kůži ve formě drobných červenofialových uzlíků, které dokazuje histologie (Goering et. al, 2016).

Ke klinicky nejvýznamnějším se řadí: *Candida albicans*, *Candida krusei* a *Candida tropicalis*.

1.1. *Candida albicans*

Je běžnou součástí přirozené střevní a ústní mikroflóry. Jako patogen se může projevit u novorozenců. Zejména u nedonošených, kteří nemají vytvořenou přirozenou mikroflóru ve střevech. Bývá izolována i při hormonálních změnách, jako je těhotenství, diabetes mellitus nebo při dlouhodobém podávání širokospektrých antibiotik. (Votava, 2003) Způsobuje řadu infekcí od povrchových přes slizniční až po život ohrožující systémové infekce. Takovéto infekce jsou označovány za kandidózy. Hlavním virulentním faktorem je tvorba biofilmu. Biofilmem se rozumí: „*vysoce organizovaná mikrobiální společenství typicky obklopena vlastní matricí.*“ (Wall G, et. al., 2019) Jedná se o vysoce regulovaný a koordinovaný proces, kde významnou roli sehrávají adheziny. Buňky kvasinek jsou uvnitř biofilmu chráněny přes imunitní obranou hostitele a antifugální léčbou. Rozptyl buněk z biofilmu je zodpovědný za kandidémi a invazivní stav (Wall G, et. al., 2019).

Candida albicans a některé faktory mohou přispívat k rozvoji rakoviny, ale u samotné kvasinky nebyl nalezen nebo stanoven konkrétní karcinogen. Mezi faktory, které mohou přispívat k rozvoji, můžeme zařadit glykoprotein C, candidalysin, výroba acetaldehydu, synergizaci s bakteriemi, chronický zánět a mnoho dalších. Můžeme se pouze domnívat, že nejčastěji izolovaná kvasinka, ať už od zdravých pacientů nebo onkologických je spojována se vznikem rakoviny. Definitivní karcinogen u *Candida albicans* nalezen nebyl a podle dosavadních výzkumů není jisté, zdali *Candida albicans* nepřispívá k rozvoji i dalších typů rakovin, jmenovitě: rakovina žaludku a jícnu nebo kolorektální karcinom (Wang X, et. al., 2023).

1.2. *Candida krusei*

Dalším zástupcem rodu *Candida* je *Candida krusei*, i když není tak často izolována jako *Candida albicans*, vyznačuje se vnitřní rezistencí vůči flukonazolu a vysokou úmrtností infekce. Může způsobovat kandidózy a fungémie, ať už systémové nebo povrchové. Zejména u pacientů s oslabenou imunitou nebo po transplantaci kmenových buněk či při nadměrném užívání flukonazolu a další antimykotických přípravků. Hlavními faktory virulenci při infekci je tvorba biofilmu, vylučování hydrolytických enzymů, tvorba proteinázy a DNAázy. *Candida krusei* je schopna inhibovat růst filament *Candida albicans*, a tedy i tvorbu biofilmu. Pro vysvětlení principu mechanismu inhibice stále probíhají výzkumy, ale podle dosavadních

zdrojů je hlavními nástroji produkce signálních molekul, konkurence o živiny a samotný prostor pro růst.

Izolovat *Candida krusei* můžeme i od zvířat, kde způsobuje infekce nebo zhorčuje zdravotní stav zvířete. Byla hlášena jako původce bronchopneumonie (akutní zánět v oblasti respiračních bronchů a alveolů) a mastitidy (zánět mléčných žláz) po celém světě. U koček po infekci dochází k dlouhodobém selhávání gastrointestinálního traktu. *Candida krusei* je součástí normální mikrobioty ptáků, ale i přesto je spojována s gastrointestinálními nemocemi zejména u papoušků rodu *Pionus* (Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM, 2020).

1.3. *Candida tropicalis*

Posledním vybraným zástupcem je *Candida tropicalis*, která je zajímavá zejména tím, že patří mezi nejvíce přilnavé druhy *Candida* a je silným producentem biofilmu. Tvorbu biofilmu ovlivňuje zejména prostředí, ve kterém působí, a fenotypové přepínání. Dalšími faktory virulence jsou sekrece proteináz, fosfolipázy a hemolyzinů, adheze na buňky a endoteliální buňky. Přilnutí kvasinky k epiteliálním buňkám hostitele je klíčovým momentem při kolonizaci i infekci. Ve srovnání s ostatními druhy rodu *Candida* byla *Candida tropicalis* klasifikována jako středně přilnavá, předčila ji pouze *Candida albicans*. Ale při testování přilnavosti k polystyrenovým povrchům bylo prokázáno, že *Candida tropicalis* disponuje nejvyšší přilnavostí, předčila i *Candida albicans*. Výsledky testování potvrdily, že míra přilnavosti k materiálům nebo buňkám hostitele je závislá na jednotlivých koloniích kmenů.

Biofilm je vysoce významný při rezistenci vůči antimykotikům, a proto je obtížné léčit infekce, jejímž původcem je mikroorganismus tvořící biofilm. Biofilm *Candida tropicalis* odolává vysokým koncentracím hlavní třídy antimykotik. Byla rovněž prokázána přítomnost paradoxního růstu. Jedná se o schopnost růst i při vysokých koncentracích antimykotik, ale ne při středních koncentracích (de Souza CM, et. al., 2023).

2. Genetika

Candida auris patří do kmene *Ascomycota*, třídy *Saccharomycetes*. Je součástí klanu rezistentních patogenů pro člověka, kam spadají i ostatní druhy rodu *Candida*, jejich jedinečnou vlastností je překlad kodonů CUG jako serin místo leucinu. Velmi zajímavým poznatkem byla analýza genomu *Candida auris*, kdy analýze byly podrobeny všechny původní čtyři izoláty, které se objevily nezávisle na sobě v různých částech světa. Původní izoláty řadíme dle geografické izolace, tedy jižní Asie, východní Asie, jižní Afrika a jižní Amerika. Zdá se, že ohniska hlášená z různých zemí světa byla způsobena jedním z původních čtyř kmenů. „Tyto výsledky naznačují vícenásobné zavlečení patogena do různých zemí a klonální expanzi v rámci každého ohniska.“ (Gustavo Bravo Ruiz, Lorenz A., 2021) Analýza genomu *Candida auris* prokázala, že genom je organizován do sedmi kotingu a pomocí gelové elektroforézy s pulzním polem, byl prokázán plastický karyotyp s pěti až sedmi chromozomy. Variabilita karyotypu je přítomna mezi kmeny původních čtyř izolátů (Gustavo Bravo Ruiz, Lorenz A., 2021).

Je důležité uvědomit si rozdíl mezi genetikou a epigenetikou. Genetika je o trvale zděděných genech, které se podílejí na normální funkci organismu. Zatím, co epigenetika zesiluje genetické změny způsobené úpravami genové exprese. Jedná se o změny na úrovni chromozomů, které jsou zodpovědné za lékovou rezistenci nebo adaptaci na stres. Chromozomální variace mohou vzniknout během dělení nebo reprodukce. *Candida auris* sdílí několik znaků, a i faktorů virulence s *Candida albicans*, proto jsou některé poznatky odvozené od *Candida albicans*. Epigenetická změna, acetylace histonů, podílejší se na virulenci *Candida albicans*, byla pozorována i u *Candida auris*, v pohodě exprese histonových proteinů. Probíhají další studie pro pochopení těchto mechanismů a jak ovlivňují virulenci (Rabaan AA, et. al., 2023). Byl nalezen případ získané rezistence na kaspofungin bez přímého vystavení léčivu. Tyto izoláty vyvinuté při osmotickém tlaku vykazovaly zlepšení růstu v přítomnosti jak kaspofunginu, tak sorbózy (monosacharidu). Bylo zkoumáno, že drastické modifikace struktury genomu nemusí nutně zasahovat do životaschopnosti *Candida auris*, ale mohou poskytnout příležitost pro adaptaci. Například při tepelném stresu některé kmeny snížily počet chromozomů ze sedmi na šest případě až na tři chromozomy. Takovýto kmen byl životaschopný a nevykazoval žádné nedostatky. Probíhají ovšem další studie pro objasnění ovlivnění variace karyotypu u *Candida auris*. Doposud pozorované variace byly způsobeny přeskupením chromozomů nebo variací počtu kopií chromozomálních sekcí.

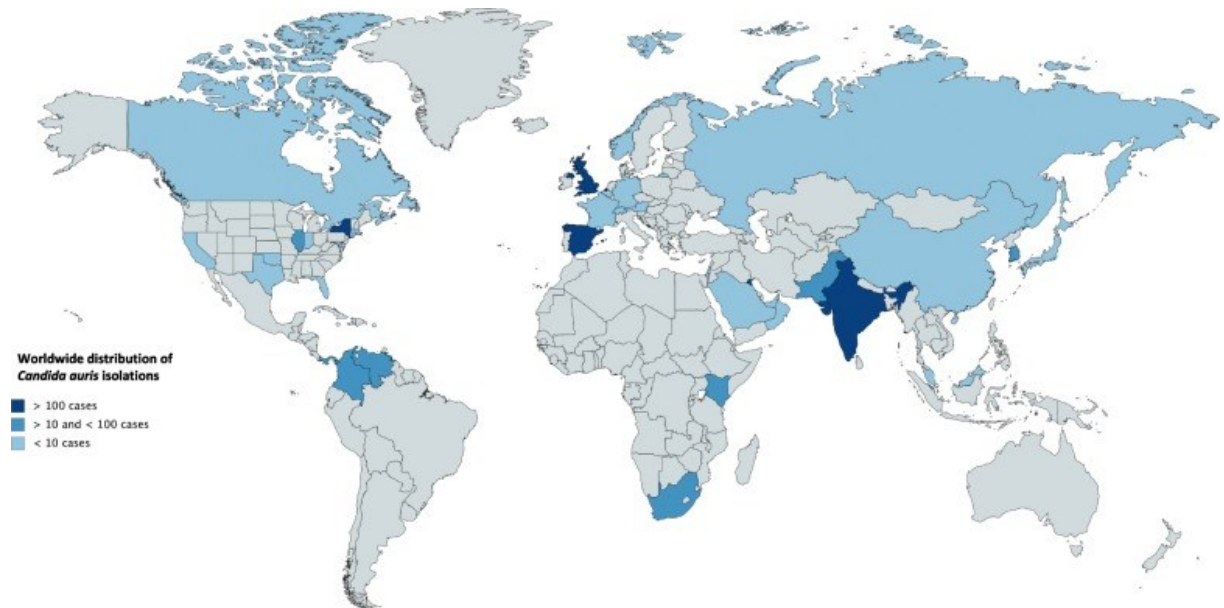
Antimykotická rezistence je v současné době obrovský problém (tato problematika je popsána v kapitole č. 6 – Rezistence). Sekvenování celého genomu *Candida auris* prokázalo, že většina genů spojených s rezistencí na léčiva a mechanismů rezistence je s největší pravděpodobností podobné jako u jiných druhů *Candida*. V této kapitole zmíním jen mutaci antimykotických cílových genů. Hlavní roli zde hraje ergosterol, což je klíčová složka membrány, a azoly, antimykotikum, které inhibuje jeho syntézu a zabraňuje růstu kvasinky. Azoly napadají specifické aktivní místo, kde dochází ke změně lanosterolu na ergosterol. Lanosterol je kódován genem ERG11, který skrze lanosterol ovlivňuje aktivní místo, mutace tohoto genu potenciálně nabízí možnost azolové rezistence. U rezistentních kmenů bylo pozorováno, že jejich mutace jsou silně spojeny s geografickými izoláty (Gustavo Bravo Ruiz, Lorenz A., 2021).

3. Epidemiologie a ohniska nákazy

Epidemiologie je definována jako „*studium distribuce stavů nebo událostí týkajících se zdraví ve specifikovaných populacích a uplatňování těchto studií při řešení zdravotních problémů*“. To, co chceme vědět o onemocnění v populaci, je: kdo, kde a kdy (Goering et. al, 2016). Ve světě byly hlášeny četné případy nákazy *Candida auris*. Šíření kvasinky přispívají sami lidé, nejčastěji jako přenašeči (Warris, 2018). *Candida auris* na rozdíl od ostatních druhů rodu *Candida*, kolonizuje kůži, jako jsou dlaně, konečky prstů, třísla, a to vede ke kontaminaci prostředí pacienta, např. zábran postele, židle, prostěradel, klimatizace, ručních ovladačů postele, kliky od dveří. Zvláštním místem pro přenos je lékařské vybavení, které přijde do kontaktu s pacienty, jako jsou manžety na měření krevního tlaku, kyslíkových maskách, ultrazvukových přístrojích (Carty J, et. al. 2023). Ve světě se objevily zprávy o nákaze zejména v Japonsku, Jižní Koreji, Indii, Kanady a USA popisující více než 100 pacientů. Nejčastější místa izolace kvasinky byla z chronického zánětu středního ucha, infekce měkkých tkání, ran a močových cest (Warris, 2018).

Vznik nového druhu *Candida* má několik vysvětlení. Jedním z nich může být, že *Candida auris* nebyla do roku 2009 rozpoznána, ale při pohledu do minulosti a přezkumu více než 15 000 izolátů ze 4 kontinentů, bylo toto tvrzení vyvráceno. V rámci přezkumu byl identifikován izolát z Pákistánu z roku 2008, který byl dříve chybě označen, a pomocí molekulární identifikace byl náhodně rozpoznán izolát z roku 1996. Můžeme jej tak označit za nejstarší izolát *Candida auris*, před rokem 1996 nejsou známi jiné izoláty této kvasinky. Ovšem k jejímu prvnímu popsání došlo až v roce 2009 (Cortegiani A, et al., 2018). Dalším vysvětlením je zvýšení dostupnosti a předepisování antimykotik. Zvýšení používání antimykotik zejména v klinickém prostředí přispělo ke vzniku rezistencí u řady druhů. Nicméně vznik nového druhu pomocí antimykotik se zdá být méně pravděpodobná, protože druhy *Candida non-albicans* se zvyšují od roku 1990. Jedním z nejpravděpodobnějších vysvětlení zůstává, že díky početným znakům virulence, termotolerance a tolerance k solím, mohly umožnit vznik nového druhu, které způsobuje závažné infekce. Studie sekvenování genomu *Candida auris* ukazují, že došlo současně k výskytu na 4 nebo i více místech najednou, nežli by došlo k rozšíření z jednoho zdroje. Díky sekvenování izolátů bylo jasně prokázáno, že sledované izoláty mají několik původů a patří k nejméně třem různým liniím (Warris, 2018). Obrázek číslo 1 znázorňuje hlášené celosvětové

případy za rok 2018 (Cortegiani A, et al., 2018). Nejvíce případů bylo hlášeno z Velké Británie, Španělska, Indie a ze Spojených států Amerických konkrétně ze států New York.



Obrázek 1 - Mapa nákazy za rok 2018 (Cortegiani A, et al., 2018)

3.1. Indie – Dilií

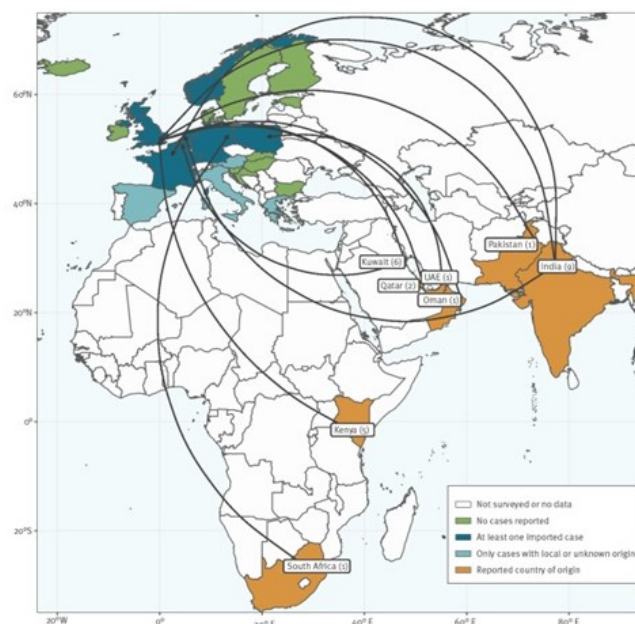
V roce 2014 byla provedena studie, která uvádí, že bylo vyšetřeno 15 izolátů od 12 pacientů, z toho jeden z případu bronchopneumonie, tři izoláty z diabetické nohy a sedm z fungémie. Pomocí sekvenční analýzy byly izoláty identifikovány a bylo identifikováno 14 izolátů jako *Candida auris*. Bylo pozoruhodné, že celkem 26 izolátů a 12 z nich bylo z dříve hlášených událostí, je klonálně a genotypově odlišných od korejských nebo japonských izolátů. Test citlivosti prokázal rezistenci u všech 14 izolátů na flukonazol, 11 izolátů bylo rezistentní na vorikonazol, 47 % izolátů bylo rezistentní na flucytosin a 40 % izolátů mělo vysokou MIC kaspofunginu. Úspěšný výsledek léčby byl pozorován u dvou pacientů, kterým bylo zavčas podán kaspofungin v kombinaci s amfotericinem B. U dalších pacientů léčba selhala nebo se rozvinula ve fungémii (Chowdhary, A., et al., 2014).

3.2. Evropa

V lednu roku 2018 byl proveden online výzkum, který obsahoval 12 otázek, které se týkaly souhrnného počtu ohnisek, a i případů *Candida auris* hlášené za roky 2013 až 2017. Do výzkumu byla zahrnuta laboratorní identifikace a testování citlivosti. Průzkumu se zúčastnilo 29 z 30 zemí Evropské unie a Evropského hospodářského prostoru. Mezi lety 2013 až 2017 bylo zaznamenáno celkem 620 případů nákazy v 6 zemí. Nejvyšší nárůst byl zaznamenán v roce 2017 s počtem 303 hlášení, z toho většina případů byla způsobena kolonizací. Nejvyšší počet případů mezi lety 2013–2017 byl hlášen ze Španělska, celkem 388

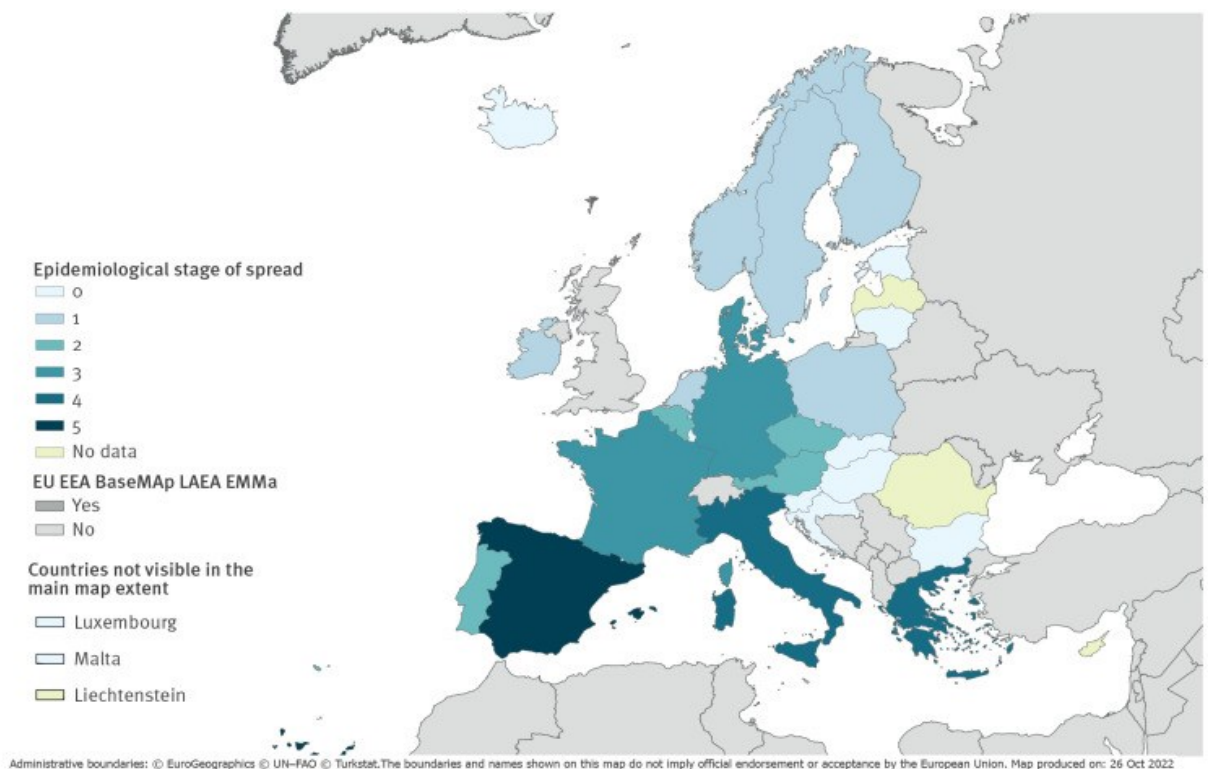
případů, Spojené království 221 případů, Německo 7 případů, Francie 2 případy, Belgie 1 případ a Norsko 1 případ. Jeden případ byl hlášen z Rakouska, ale není do statistiky zahrnut. Nejvíce případů bylo hlášeno jako kolonizace s počtem 466, infekce krevního řečiště byly hlášeny ve 150 případech a u čtyř případů byla kolonizace nebo infekce neznámá. Ve zbývajících 15 zemích nebyla zjištěna kolonizace nebo infekce *Candidou auris* a v sedmi zemích nebyl dostatek informací o případech (Kohlenberg A, et. al., 2018).

V pořadí druhý výzkum byl proveden mezi lednem 2018 a květnem 2019, v EU/EHP bylo za tuto dobu hlášeno 349 případů z toho 257 případů bylo ve spojitosti s kolonizací, 84 případů infekce krevního řečiště, 7 případů měly příčinu v jiných infekcích a jeden případ byl neznámého infekce nebo kolonizace. Do výzkumu se zapojilo 29 zemí z celkových 30 zemí v Evropské unii a Evropském hospodářském prostoru. Nejvíce případů hlásilo Španělsko, kdy počet případů dosáhl 291, nebo Spojené království, kde se počty případů dosahovaly 84. V Německu byly zjištěny 3 případy, v Nizozemsku 2 a ve Francii 1. Objevili se i první případy z Řecka a Polska, kde počet případů nepřesáhl 1. Z celkového počtu 349 bylo 324 pacientů nakažených lokálně, 19 bylo nakaženo importovaně, protože byli hospitalizováni v zemi s hlášenými případy, a u 6 pacientů nebylo místo nákazy známo. Z 19 případů bylo osm z Indie, čtyři z Keni, dva Kataru a jeden z Kuvajtu, Ománu, Pákistánu, Jižní Afriky a Spojených arabských emirátů. Obrázek č. 2 popisuje odkud byly importované případy (Plachouras D, et. al., 2019).



Obrázek 2 - Rozložení importovaných nákaz (Plachouras D, et. al., 2020)

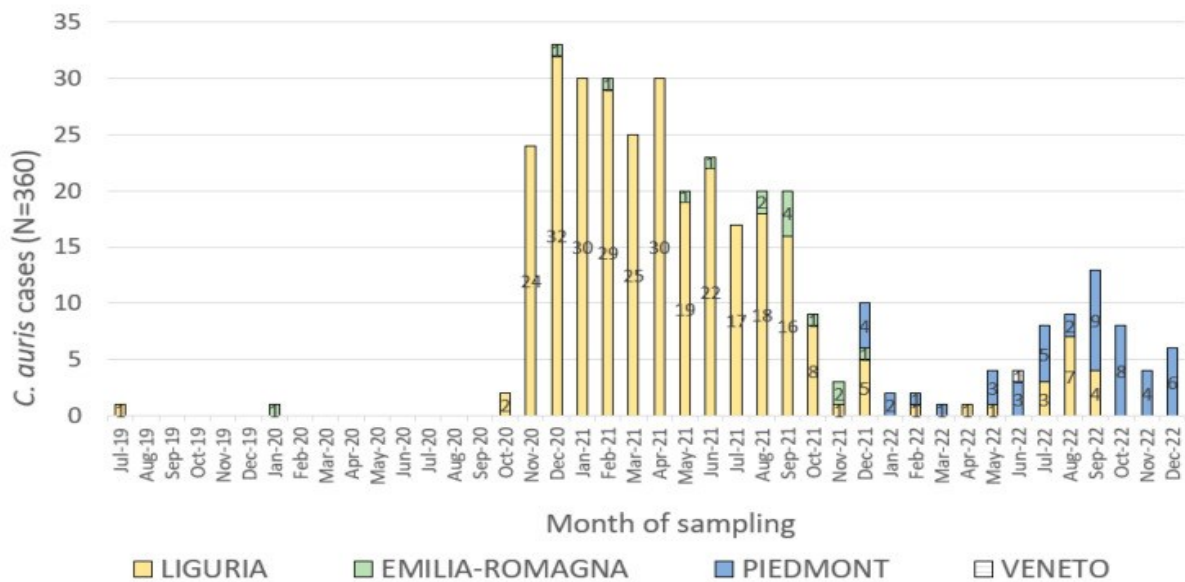
Po pandemii viru COVID-19 byl výzkum *Candida auris* obnoven a zahájil se v pořadí třetí výzkum. Výzkum byl zaměřen na informace týkající se epidemiologické situace, aktualizaci stávajících informací a úsilí na kontrolu nad *Candida auris* v EU/EHP. Odpovědi odeslalo všech 30 oslovených zemí. Dohromady ze všech třech průzkumů bylo hlášeno 1812 případů *Candida auris* počet případů mezi roky 2020 a 2021 se téměř zdvojnásobil na 655 případů, které byly nahlášeny 13 zeměmi. V celkovém počtu všech případů bylo 1 146 případů bylo hlášeno jako přenos, infekce krevního řečiště se vyskytovala u 277 případů, u 186 případů se vyskytla jiná infekce. K 203 případům nebylo dostatek informací o infekci nebo přenosu. Informace, zdali se jednalo o importovaný případ nebo lokální nebylo k dispozici u 1758 případů, 10 případů bylo hlášeno jako lokální a 44 jako importované. Obrázek číslo 3 ukazuje stádia šíření infekce. Země jsou rozděleny podle počtu infikovaných, který byl stanoven na základě hodnocení a metodiky epidemiologie (Kohlenberg A, et. al., 2022).



Obrázek 3 - Stádium šíření *Candida auris* (Kohlenberg A, et. al., 2022)

3.3. Severní Itálie

V období od července 2019 do prosince 2022 v regionech Ligurie, Piemont, Emilia-Romagna a Veneto bylo zjištěno celkem 361 případů. Většina případů byla považována za kolonizované a jeden měl historii vycestování do zahraničí. Případy infekce kvasinkou rodu *Candida*, včetně *Candida auris* podléhá povinnému hlášení podle výnosu ministerstva. První případ v Itálii byl identifikován v roce 2019 v nemocnici v regionu Ligurie. Pacient neměl v záznamech nedávné cesty do zahraničí či hospitalizaci v nemocničních zařízeních. Poslední případy byly hlášeny v roce 2022 z oblastí Benátska, Ligurii a Piemontu. Obrázek číslo 4 ukazuje incidenci případů za období července 2019 a prosince 2022. Tvar křivky naznačuje epidemii, které vyvrcholila prosinci 2020 celkový počtem případů 32, druhý pík byl v září 2022 s celkovým počtem 13 případů (Sticchi et. al, 2023).



Obrázek 4 - Incidence případů v období července 2019 do prosince 2022 (Sticchi et. al, 2023)

3.4. Rumunsko

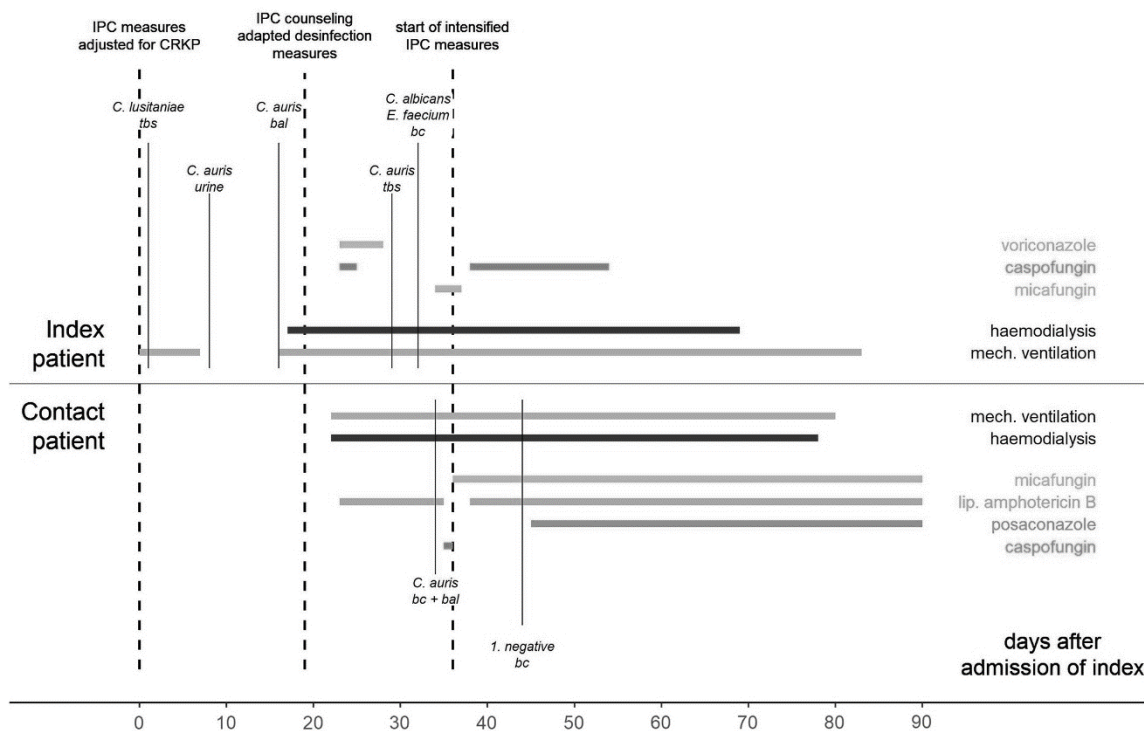
První případ nákazy *Candida auris* v Rumunsku byl zaznamenán na začátku roku v lednu 2022 v několika nemocnicích v hlavním městě Bukurešti. Za období od ledna do srpna 2022 byl patogen izolován od 40 pacientů. Polovina pacientů měla za primární diagnózu jiného patogena, než je *Candida auris*, osm případů bylo přijato s diagnózou cévní mozkové příhody, devět pacientů bylo diagnostikováno s COVID-19 při přijetí do nemocnice nebo v předchozích 14 dnech a zbylí pacienti byli diagnostikováni na různorodé nemoci. U všech pacientů se současně vyskytovalo více onemocnění než jen onemocnění způsobené *Candida auris*. Izoláty zmíněné ve studii dokazují, že všechny patří do jihoasijského klanu, a kromě dvou jsou si velmi podobné. Podle hypotézy došlo ke klonálnímu šíření ve třech nemocnicích zahrnutých do studie, kromě dvou izolátů, které nebyly podobné jihoasijskému klonu. Pro prozkoumání této hypotézy bude potřeba další studií, hustší sít vzorků a dalších analýz (Stanciu AM, et. al., 2023).

3.5. Polsko

Pravděpodobně první diagnostikovaný případ v Polsku v únoru 2019 byl od pacienta, který prodělal meningokokovou infekci a byl předtím hospitalizován ve Spojených arabských emirátech. Pacientovi byly odebrány vzorky krve a stěry z ran na končetinách. Hemokultura se po dvou dnech inkubace projevila jako pozitivní a mikroskopické vyšetření potvrdilo nález pučících kvasinek. Spolehlivou potvrzení poskytlo vyšetření MALDI – TOF MS. Pomocí molekulárních metod bylo potvrzeno, že izolát patří do kladu I, též jihoasijského. Testování citlivosti u prvního izolátu a následně i u ostatních vykazovaly přibližně podobné hodnoty MIC. Izolát byl rezistentní na flukonazol, proto volbou léčiva byly echinokandiny, u kterých se průběžně sledovala citlivost až do konce léčby. Z krve se podařilo *Candida auris* eradikovat na rozdíl od ran na končetinách, kde kolonizace přetrvávala více než měsíc pro úspěšné léčbě (Prażyńska M, et. al., 2019).

3.6. Německo

Prvním pacientem (*index patient*), u kterého byl zdokumentovaný případ *Candida auris* na jednotce intenzivní péče (JIP) COVID-19 v Německu, byla 65letá žena. Pacientka byla přijata ze severní Afriky, izolována a byla u ní zahájena ošetrovatelská práce. Izolace pacientky byla z důvodu pozitivního vstupního screeningu na *Klebsiella pneumoniae*. Den po přijetí byla pacienta připojena na mechanickou ventilaci z důvodu respirační tísně dospělých. 11. den hospitalizace byla poprvé izolována *Candida auris* ze vzorku moči (viz. obrázek 5 – klinický průběh), 27. den byla pozitivně potvrzena v bronchoalveolární laváži odebrané 16. dne. Pozitivně detekována byla *Candida auris* v tracheobronchiálním sekretu a hemokultivaci. Oba nálezy byly klasifikovány jako kolonizace a léčba nebyla zahájena. Zachována zůstala opatření izolace jednoho pokoje. 90 den byla pacientka propuštěna a převezena na rehabilitační oddělení s přetrvávající kolonizací *Candida auris* (inguinální rýhy, hrdlo, nos a moč). Dalším pacientem (*contact patient*) byl 60letý muž, který byl přijatý 15 dní po *index patient*. Anamnéza pacienta zahrnovala transplantaci plic a středně chronické onemocnění ledvin. Pacient byl přijat z externí nemocnice z důvodu kyslíkové insuflace a byl intubován v 9. den hospitalizace pro respirační vyčerpání. 20. den hospitalizace byla u pacienta detekována těžká sepsa a následně odebrané hemokultury po třech dnech odhalily *Candida auris*, která byla detekována i v tracheobronchiálním sekretu. V 73. den byl pacient převezen na rehabilitační oddělení, přičemž byl stále kolonizován na kůži, hrdlo a nose.



Obrázek 5 – Klinický průběh pacientů sledovaných pacientů (Hinrichs C., et. al, 2022)

Testování izolátů získaných od *index* a *contact patient* prokázalo možnou příslušnost ke kladu I popřípadě kladu III. Po sekvenování byl závěr zúžen na klad I. Navíc vykazovali typickou mutaci Y132F v Erg11, což definitivně potvrdilo, že se jedná o klad I. Testování citlivosti počátečních izolátů od obou pacientů bylo téměř identické a nebyla pozorována získaná rezistence. Izoláty od pacientů byly naočkovány na CHROMagar™, inkubovány při 37 °C po dobu 4 dnů, poté byly identifikovány pomocí MALDI – TOF. Vzorky bronchoalveolární laváže byly též naočkovány a inkubovány při 28 °C po dobu 4 týdnů. Léčba antimykotiky byla nastavena dle výsledků citlivosti. Sledování byly oba pacienti. *Index patient* navštívila svého lékaře 57. den po propuštění a série výtěrů byla na *Candida auris* negativní, stejně tak tomu bylo 105. den po propuštění, kdy byla znovu přijata do nemocnice z nedostatečnosti nadledvin, kde provedené stěry byly negativní na *Candida auris*. *Contact patient* byl 45 dní po propuštění znovu přijat v externí nemocnici z důvodu chronického plicního onemocnění. Jeden z provedených výtěrů odhalil kolonizaci *Candida auris* (výtěr z krku). Další kontrolní výtěry a vzorek sputa byly negativní. 202. den byl pacient znovu přijat z důvodu operace a ve vzorku sputa byla detekována *Candida auris*, což značí dlouhodobou kolonizaci.

Ihned po prokázání další *Candida auris* (*contact patient*) byla vytvořena rada, kdy jednotliví členové byli z institucí napříč odděleními i mimo nemocnici. Oba případy *Candida auris* byly izolovány na konci oddělení JIP v sousedních pokojích, izolovány od ostatních pacientů byly neobydlenými pokoji a dělicí stěnou. Pro pacienty byl vyhrazen personál, který pečoval pouze o ně, vyhrazeno jim bylo i lékařské vybavení (jednorázové čepele, mobilní rentgen, ultrazvuk, EKG záznamník atd.). Přímý přenos *Candida auris* od personálu byl nepravděpodobný z důvodu poskytnuté péče *index patient* a k ochranným pomůckám proti COVID – 19. Pravděpodobněji byla cesta přenosu nepřímá skrze lékařské přístroje a zařízení. Analýza odhalila možnou cestu přenosu přes opakované použitelné lopatky, které se využívají při videolaryngoskopicky naváděné intubaci. Lopatky byly použity u *index* pacientky a o 7 dní později u *contact patient*, mezitím nebyl nikdo další intubován. Vybavení je pravidelně desinfikováno, ale vzhledem ke své složité konstrukci a kanálkům, se jeví jako nejpravděpodobnější možnost přenosu *Candida auris*, nicméně vybavení bylo testováno a *Candida auris* nebyla detekována (Hinrichs C., et. al, 2022).

3.7. Vietnam

První potvrzený případ infekce *Candida auris* byl zaznamenán v roce 2020 na Klinice plicního lékařství nemocnice Cho Ray. Další případy byly zaznamenány na stejné klinice v období od listopadu roku 2022 do května 2023, jednalo se celkem o 4 zaznamenané a potvrzené případy. Pacienti byli muži ve věku 59–73 let a doba jejich hospitalizace byla od 23 do 73 dnů. Společnými znaky byla dřívější hospitalizace, přijetí na jednotku intenzivní péče, zavedení umělé výživy přímo do krevního řečiště, tracheostomie a také použití invazivního lékařského vybavení (centrální žilní katetr, žaludeční sonda a močový katetr). Všem 4 pacientů bylo diagnostikováno respirační selhání, pneumonie a hypoalbuminémie. U dvou případů byla *Candida auris* identifikována díky VITEK 2 a potvrzena MALDI – TOF MS. U obou případů způsobovala kandidémii. Následné testy na citlivost prokázaly citlivost na flukonazol a kaspofungin. Rezistence na amfotericin B byla zaznamenána pouze v jednom ze dvou případů, pravděpodobně z důvodu předchozí vystavení léčivu. Jednalo se o první případy infekce *Candida auris* ve Vietnamu, proto je nezbytný další výzkum (Dang-Vu T, et. al., 2024).

4. Patogenita

Míra patogenity *Candida auris* je ve srovnání s běžnými patogenními kvasinkovými druhy vyšší. Schopnost tolerance soli a shlukování buněk do velkých a těžko rozpustitelných seskupení, může přispět k odolnosti v nemocnicích (Cortegiani A, et al., 2018). Patogenita *Candida auris* byla testována na různých objektech a porovnávána s patogenitou *Candida albicans*. Bylo zjištěno, že u bezobratlých živočichů, modelová infekce *Galleria meilonella*, byla infekce *Candida auris* méně virulentní než *Candida albicans*. Naopak při modelové infekci s *Drosophila melanogaster* byla *Candida auris* více virulentní než *Candida albicans*. Pro studium reakce neutrofilů byl využit systém obratlovců zebrafish. Výsledek studie byl znepokojivý, protože ukázal, že *Candida auris* se vyhýbá detekci neutrofilům, které by za normálních podmínek vytvoří past, do které lapají patogeny. Je pozoruhodné, že *Candida auris* se hromadí v ledvinách, kde vytváří buněčné agregáty, nebo mozku či srdci (Gustavo Bravo Ruiz G, Lorenz A., 2021).

Jelikož se jedná o nového patogena, který byl poprvé izolován před několika lety, tak plno otázek a principů nebylo ještě zodpovězeno, proto faktory virulence, a i patogenita *Candida auris* jsou stále neznámou. Dosavadní výzkumy, ale vykreslují znepokojivý obraz, kdy *Candida auris* předčí svojí patogenitou ostatní druhy kvasinek rodu *Candida* (Desoubeaux G. et. al., 2022).

První popis faktorů virulence přišel v roce 2015 z Indie, kdy byly popsány aktivity fosfolipázy a proteinázy. O rok později, tedy 2016, vyšla studie od Bormana a kol., kteří uváděli rozdílnou rychlost a dobu růstu dceřiných buněk, které se projevovali jako agregující fenotyp. Tato studie byla základem pro další výzkum zabývající se schopností *Candida auris* tvořit biofilm tolerantní k antimykotikům (Kean R, et. al., 2020). Popis následujících faktorů je tedy omezen je na doposud objevené i k těm můžeme řadit tvorbu biofilmu, schopnost adherence, morfologické přepínání a tvorbu hydrolytických enzymů, kterými jsou fosfolipáza a proteináza (Du H, et. al., 2020).

Fosfolipázy štěpí esterové vazby ve fosfolipidech. Produkce fosfolipáz je přímo závislá na kmeni. Proteinázy štěpí proteiny na menší bílkoviny nebo až na jednotlivé aminokyseliny, zároveň se podílejí na adhezi, tvorbě biofilmu a degradaci hostitelské tkáně. Bylo dokázáno, že sekretované aspartylované proteinázy snižují roli imunitního komplementového systému a zcela se tak díky tomu vyhýbá imunitnímu systému. Nesmíme zapomenout na rezistenci vůči antimykotikům, která je dominantním faktorem patogenity. *Candida auris* vykazuje vysoké minimální inhibiční koncentrace vůči flukonazolu a je prvním druhem *Candida*, který byl

označen za multirezistentní díky své rozsáhlé schopnosti odolávat antimykotické léčbě. Panuje obava z výskytu pan-rezistentní *Candida auris*, kdy doktor Ostrowsky a kolektiv lékařů popsali celkem 3 pacienty s pan-rezistentní *Candida auris*, která se vyvinula po podání antimykotik. Z počátku byli citlivé na echinokandiny, rezistence na ně byla zjištěna po léčbě, což ukazuje, že se objevila v průběhu terapie. U pacientů, u kterých se objevil pan-rezistentní kmen, by měli být pečlivě sledováni, prováděny opakovaně testy na citlivost, zejména u pacientů, kteří byli léčeni echinokandiny. Více z této problematiky je popsáno v kapitole č. 6 – Rezistence (Watkins RR, et. al., 2022).

4.1. Biofilm

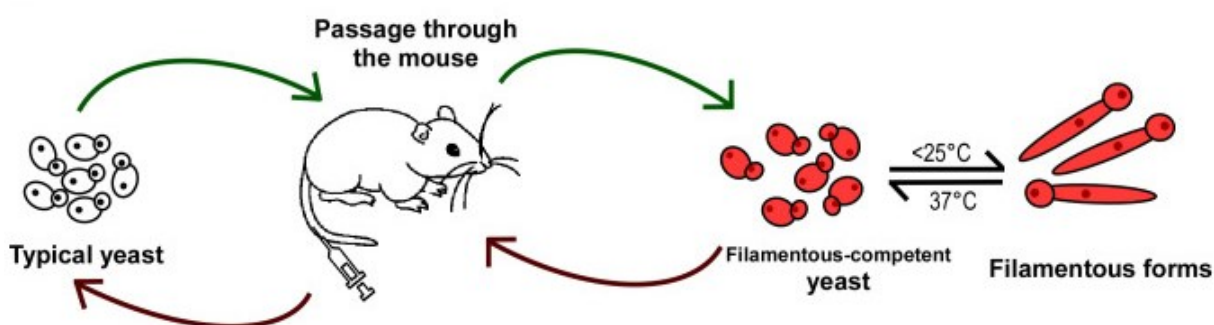
Zásadní mechanismus patogenity *Candida auris* má schopnost vytvářet biofilm na řadě klinicky významných místech. V klinickém prostředí se biofilm vytváří na sliznicích nebo žilních katetrech, které jsou i místem zdroje infekce odkud se může infekce šířit dál. Biofilmy se skládají z kvasinkových buněk přilnutých k materiálu (např. katetr). Doktor Sherry a kol. z Univerzity Glasgow studovali schopnost *Candida auris* tvořit antimykoticky rezistentní biofilmy proti třem hlavním třídám antimykotik. Ukázalo se, že biofilmy jsou odolné proti chlorhexidinu a peroxidu vodíku. Velmi zajímavé ve studii bylo, že kapsofungin byl většinou neaktivní proti biofilmu, jednalo se o neočekávané zjištění, protože kapsofungin je vysoce účinný proti biofilmu rodu *Candida*. Tato vlastnost přispívá k přežití kvasinky v nemocnicích a potvrzuje její vysokou virulenci (Sherry L et. al., 2017), (Cortegiani A, et al., 2018). Doktor Kean a kol. z Univerzity Glasgow zkoumali geny za použití molekulárních metod, aby zjistili, které geny, jsou důležité, aby biofilm *Candida auris* byl odolný. Analýza prokázala, že ve středních a zralých fázích tvorby biofilmu byla posílena (zlepšena) řada genů kódující efluxní pumpy, což naznačuje rezistenci zprostředkovanou efluxem. Dříve Ban-Ami a kol. uváděl vyšší efluxní aktivitu, což naznačuje zprostředkovanou rezistenci vůči azolům. V nedávné studii byla srovnávána virulence *Candida auris*, *Candida albicans* a dalších druhů rodu *Candida* v invazivní infekci na imunokompetentních myších. Autoři studie uvedli, že virulence *Candida auris* se zdá podobná jako u *Candida albicans*, což naznačuje, že společné genové úseky by mohly hrát hlavní roli (Cortegiani A, et al., 2018).

4.2. Adherence

Schopnost adherence neboli přilnutí, je společná pro celý rod *Candida*. Jedná se o specializovanou sadu proteinů, adhezínů, které zprostředkovávají adherenci k jiným buňkám nebo povrchům, tvorba biofilmu (Mayer FL, et. al., 2013). U *Candida auris* je, ale schopnost adherence slabá ve srovnání s jinými kvasinkami stejného druhu, např. *Candida albicans*, přestože se jedná o důležitou schopnost, přilnout ke katetru, při vzniku kandidózy spojené s katetrem (Larkin E, et al., 2017).

4.3. Morfologické přepínání

Morfologické přepínání je běžnou strategií přežití a adaptace na změnu prostředí. Za určitých podmínek prostředí mohou procházet mezi morfologickými přechody. Tento jev je typický pro patogenní kvasinky rodu *Candida*. Nejprozkoumanější, díky desetiletím výzkumům, je *Candida albicans*, kdy po nanesení na agar může přejít z bílých kolonií do vláknité podoby. V organismu tyto hyfy vyčnívají a prorážejí si cestu do kožních vrstev, kam by se jinak kvasinky nedostaly. U *Candida auris* takovéto přepínání pozorováno nebylo, přestože za správných podmínek může dojít k tvorbě pseudohyf. Je nutné zmínit, že *Candida auris* postrádá candidalysin, toxin zodpovědný za poškození hostitelských epiteliálních buněk, a protein buněčné stěny hyf, které jsou nezbytné pro správný růst hyf. Obrázek číslo 6 zobrazuje mechanismus morfologického přepínání, kdy průchod myší zajišťuje přechod mezi typickou formou kvasinek do vláknité formy. Častější jsou jednobuněčné izoláty, nicméně část izolátů *Candida auris* tvoří velké agregáty buněk, kdy mateřská a dceřiná buňka zůstávají spojeny. Takové agregáty lépe odolávají antimykotické léčbě a antifungálním činidlům. Naopak vykazují sníženou virulenci (Du H, et. al., 2020).



Obrázek 6 - Morfologické přepínání (Du H, et. al., 2020.)

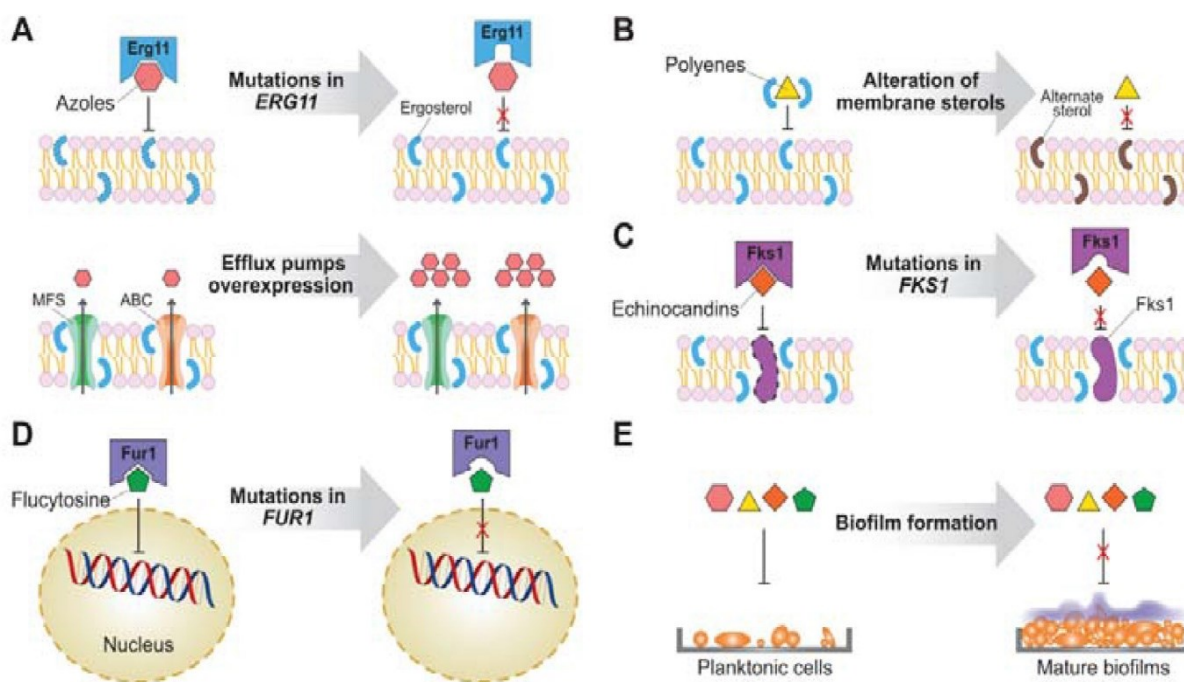
5. Onemocnění

Candida auris si získala v posledních deseti letech velkou pozornost, jednak díky tomu, že se jedná o nově objevený patogen, ale také díky vysokými čísly úmrtnosti, epidemiemi v nemocnicích po celém světě a svou multirezistencí. Celosvětově probíhají výzkumy ať už z vědecké nebo z klinické praxe (Du H, et. al., 2020).

Kvasinky rodu *Candida* vyvolávají onemocnění, které se nazývá kandidóza. Může se projevit na sliznicích, kůži nebo se může jednat o systémové postižení. Nejčastější z nich jsou slizniční, které mohou mít akutní a chronický průběh, příkladem může být pseudomembránózní orofaryngální kandidóza. Přezdívá se jí tzv. soor a postihuje především predisponované pacienty a dětské pacienty. Příklady kožní infekce, která se může u predisponovaných pacientů rozvinout do systémové infekce, je mykóza zevního zvukovodu, onychomykóza a mukokutánní kandidóza, která je charakteristická opakující se infekcí kůže a nehtů. Nejčastějším projevem systémové infekce je kandidémie, jde o stav, kdy jsou kvasinky přítomny v krevním oběhu. U zdravých pacientů může mít bezproblémový průběh a dochází u nich ke komensalismu, problém nastává u imunosuprimovaných pacientů, kdy se jedná o život ohrožující stav. Postižena může být řada vnitřních orgánů – játra, slezina, centrální nervový systém, kosti a srdce. Infekce může probíhat ve třech stupních: akutně, subakutně a chronicky, stupeň závisí na predispozicích pacienta a na závažnosti zasažení vnitřních orgánů. Problematické jsou klinické příznaky, které jsou zprvu nespecifické a později mohou dominovat orgánové komplikace. Nejohroženější skupinou jsou pacienti s imunodeficitou – vrozené postižení aktivace T-lymfocytů, hematologičtí pacienti, pacienti po transplantacích kmenových buněk krvetvorby. Riziko se nevyhýbá ani pacientům, kteří jsou dlouhodobě hospitalizováni na jednotkách intenzivní péče, novorozencům nebo pacientům na chirurgických odděleních se zavedenými centrálními katetry (Kolářová, 2020). Predisponujícími rizikovými faktory mohou být diabetes mellitus a chronické onemocnění ledvin. Vysokým rizikem je časté podávání širokospektrých antibiotik nebo antimykotik, které vyhubí přirozenou mikroflóru a infekci *Candida auris* nic nebrání. Infekce *Candida auris* se nemocničním prostředím vyznačuje vysokou antimykotickou rezistencí, náklady na dekontaminaci a vysokými čísly úmrtnosti, jak bylo zmíněno výše. Věk v infekci *Candida auris* nehraje žádnou roli jsou hlášeny případy, kdy pacientem byl novorozenec, a i případy kdy pacientem byl starší člověk, infekce může postihnout jakoukoliv věkovou skupinu. Vzhledem k různorodosti rizikových faktorů je nutné provést další výzkumy a studie (Du H, et. al., 2020).

6. Rezistence

Candida auris má schopnost vyvinout rezistenci vůči běžně dostupným antibiotikům, ta může být důsledkem za vysokou mortalitu u hospitalizovaných a imunokompromitovaných pacientů. Doposud zveřejněné studie ukazují na zvýšenou minimální inhibiční koncentraci (MIC) pro tři hlavní skupiny antimykotik, kterými jsou: azoly, polyeny a echinokandiny (Cortegiani A, et al., 2018). V současné době rozdělujeme tři druhy rezistence. Tím prvním jsou tzv. multirezistentní kmeny, což znamená, že vykazují rezistenci alespoň ke třem skupinám antimikrobiálních látek zároveň. Druhým typem je pan – rezistence, kdy stanovovaný kmen je citlivý alespoň na jednu antimikrobiální látku. Posledním typem je tzv. *extreme – drug – rezistant* (XDR), kdy kmen není citlivý na žádnou dostupnou látku. Důležité je správné a včasné rozpoznání (Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM, 2020). *Candida auris* se jeví jako multirezistentní kmen a k léčbě je jen omezený počet antimykotik z několika skupin (Cortegiani A, et. al., 2018). Ovšem antimykotická léčba je primární a hlavním krokem reakce proti mykotickým infekcím. Na obrázku 7 můžeme vidět jednotlivé mechanismy rezistence a v následujících kapitolách jsou jednotlivé mechanismy popsány (Tu J, et. al., 2022).



Obrázek 7 - Mechanismy rezistence (Tu J, et. al., 2022)

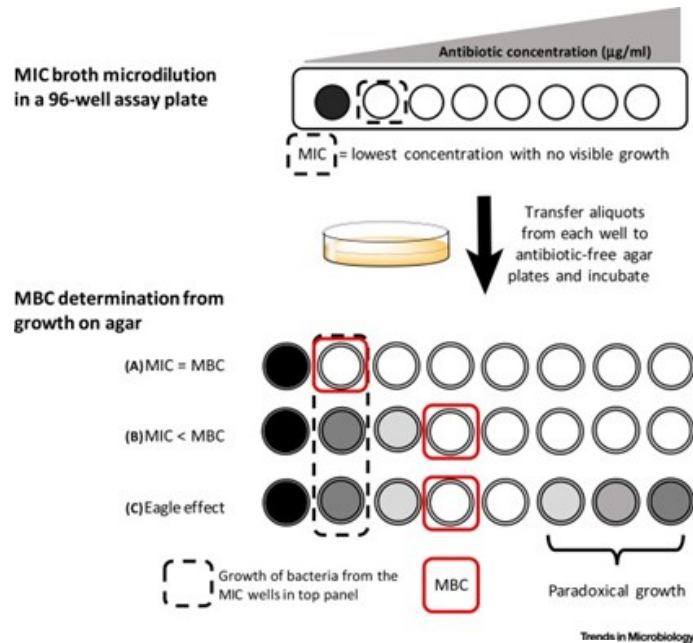
6.1. Mutace antimykotických cílových genů

Rezistence je způsobena díky bodovými mutacím v genu lanosterol 14- α -demethylázy, označované jako ERG11, schéma D na obrázku 7 (Tu J, et. al., 2022)- Tento gen a aktivní místo lanosterol 14- α -demethyláza, jsou cíle azolů, protože inhibují tvorbu ergosterolu, což je klíčová složka membrána. Mutace ovlivňující aktivní místo potenciálně nabízí rezistenci vůči léčivům ze skupiny azolů. V genu ERG11 byly zjištěny substituční mutace, které vedou ke změnám aminokyselinových zbytků, konkrétně Y132F, K143R a F126T, které souvisí s geografickým rozložením izolátů. Tyto substituce byly specifické pro oblasti izolátů: Y132F Venezuela, K143R s Indií a Pákistánem. U indického ERG11 genu byly zjištěny substituce na pozicích Y132 a K143, u izolátu, které vykazovaly rezistenci vůči flukonazolu. Zatím, co izoláty bez substituce v těchto pozicích vykazovaly nízké hodnoty MIC. Výsledky studie ukazují, že substituce by poskytly fenotyp rezistence na flukonazol (Cortegiani A, et al., 2018). Zavedením mutovaných verzí ERG11 z *Candida auris* do *Saccharomyces cerevisiae* vedla ke zvýšené rezistenci vůči flukonazolu, což opět naznačuje, že určité mutace ERG11 pozorované u *Candida auris* nabízejí ochranu před azoly (Gustavo Bravo Ruiz, Lorenz A., 2021).

Stejným principem, tedy mutací antimykotických cílových genů, pracují echinokandiny, schéma C na obrázku 7. Jedná se o antimykotika, která představují jednu z nejdůležitějších tříd léků pro léčbu způsobenými mykotickými původci. Způsob účinku je závislý na inhibici β -1,3-glukan syntázy. Jedná se o enzym nezbytný k syntéze hlavního sacharidu buněčné stěny. Jeho poškození a poškození buněčné stěny navozuje stav podobný osmotickému stresu (Gustavo Bravo Ruiz, Lorenz A., 2021). V principu se jedná o mutace v genu, konkrétně genu FKS1 kódující glukan syntázu. Genová analýza, která byla provedena lékaři v Itálii, ukázala, že z 38 izolátů *Candida auris*, získaných z Indie, čtyři vykazovaly rezistenci vůči echinokandinům a zbývajících 34 vykazovaly nízké hodnoty MIC echinokandiny. Ony zmíněné čtyři izoláty měly substituci aminokyselin S639F v genu FKS1, stejnou substituci vykazuje i *Candida albicans* rezistentní na echinokandiny (Cortegiani A, et al.), (Wagener J, Loiko V., 2018).

Studie z New Jersey, upozorňuje na komplikace spojené s testováním antimykotické citlivosti na kaspofungin. Testované izoláty vykazovaly tzv. Eagleův efekt neboli paradoxní růstový efekt. Eagleův efekt je jev, při kterém zkoumaný mikroorganismus je vystavený koncentracím léčiva vyšší, než je jeho baktericidní koncentrace, a i přes to je schopen obnovit růst, zatím co při nižších koncentracích je na dané léčivo citlivý (obrázek č. 8). Eagleův efekt může připomínat perzistenci a toleranci, ale existují důkazy, že se spíše jedná o odlišné reakce na léčbu (Prasetyoputri A, et. al., 2019). Jev nám dokládá, že mikroorganismy mají spoustu

nástrojů, jak se vyhnout léčivům. U *Candida auris* dochází k morfoloogickým změnám ve struktuře buněčné stěny, kterými jsou: zvětšení buněk, abnormální septa a zvýšená obsah chitinu. Ten nahrazuje snížený β -1,3 glukán, který klesá v přítomnosti kaspofunginu. Zvýšený obsah chitinu může být kompenzační mechanismus za chybějící β -1,3 glukán (Cortegiani A, et al., 2018).



Obrázek 8 - Ředění antimykotik (Prasetyoputri A, et al., 2019)

Amfotericin B je toxické antimykotikum se širokým spektrem účinku. Váže se na ergosterol a tím ovlivní permeabilitu, propustnost buněčné stěny a způsobí buněčnou smrt. Než dojde k vazbě amfotericinu B na ergosterol, musí ergosterol překonat bariéru v podobě stěny, složené zejména z chitinu a β -1,3-glukanu, viz. schéma B na obrázku 7 Tento krok může být mechanismem rezistence na amfotericin. Dalším možným krokem rezistence může být minimální až nulová přítomnost ergosterolu v membráně (Tu J, et. al., 2022).

6.2. Export antimykotik z buňky

Export z buňky je zajištěn díky aktivním efluxním pumpám, schéma A na obrázku 7. Kvasinky rodu *Candida* si vyvinuly rezistenci vůči klinickým fungicidním prostředkům a léčivům. Export léčiva z buňky se nemusí týkat pouze jednoho léčiva, ale i více léčiv. Základem toho je zvýšená aktivita efluxních pump, buď vyšší expresí nebo expanzí genových rodin. Dvě rodiny, které se podílejí na snížené citlivosti na antimykotika jsou transportéry ATP – binding cassette (ABC) a Major facilitator superfamily (MFS), obě jsou uchovány v *Candida auris* (Tu J, et. al. 2022).

6.3. Nadměrná exprese antifugálního cíle

Izoláty *Candida auris*, u kterých nelze rezistenci vysvětlit mutacemi cílových genů nebo expresí efluxních pump, můžeme vysvětlit dalším mechanismem rezistence, viz. schéma A na obrázku 7. Takovým mechanismem mohou být faktory zapojené do biosyntézy ergosterolu, včetně ERG11. Kmeny *Candida auris* rezistentní na amfotericin B mají zvýšenou expresi genů ERG1, ERG2, ERG6 a ERG13. Rezistence vůči flukonazolu může být způsobena duplikací až triplikací genu ERG11, které byly ve velkém počtu v izolátech *Candida auris*. Zajímavostí je, že stárnutí generací je spojeno s tolerancí vůči lékům pro všechny třídy antimykotik. Geny hrající roli v rezistencích jsou kódovány ve starých buňkách, které je nadměrně exprimují. Po omlazení generace byla rezistence výrazně nižší, než u straší generace izolátu, což znamená, že starší generace vykazuje vyšší toleranci k flukonazolu a amfotericinu B než mladší generace buněk (Du H, et. al., 2020).

6.4. Biofilm

Biofilm je založen na adhezenci buňka – buňka. Tvorba biofilmu je jedním z klíčových faktorů virulence, ale poskytuje i antimykotickou toleranci a schopnost přetrvat na různých místech (schéma E obrázek 7). Zrání biofilmu vzájemně souvisí se sníženou citlivostí na různá antimykotika. Jmenovat můžeme například zadržování flukonazolu v biofilmu je klíčem rezistence na flukonazol u *Candida auris*. Zajímavostí je, že *Candida auris* je v biofilmech méně citlivá na dezinfekční prostředky – chlorhexidin, peroxid vodíku nebo chlornan (Du H, et. al., 2020).

7. Diagnostika

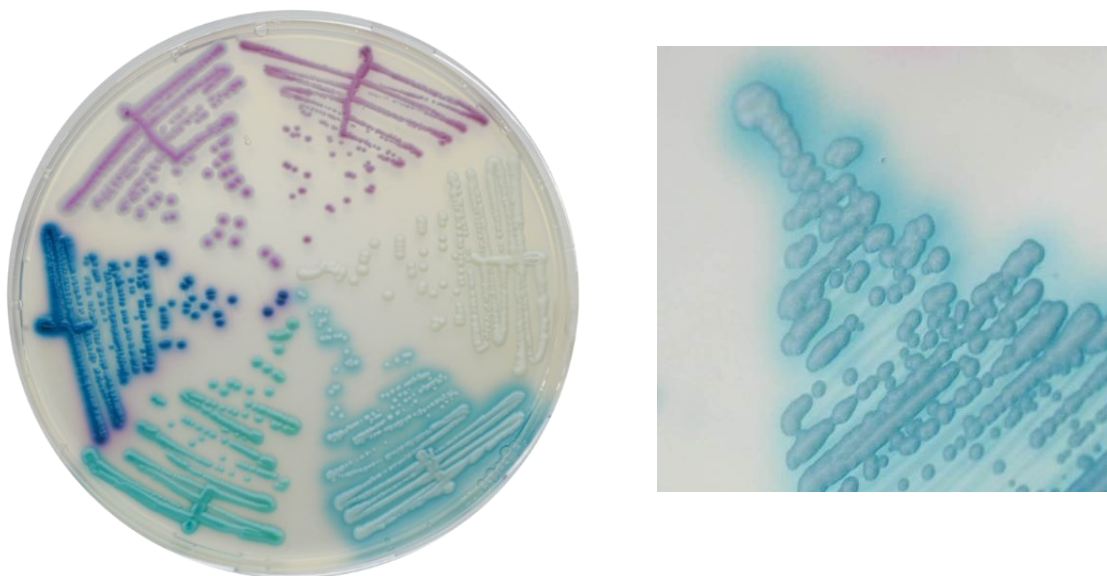
Diagnostika *Candida auris* je náročná. Při použití tradičních biochemických testů kvasinka bývala a nejspíše i stále je, chybně identifikována jako *Candida haemulonii* nebo jako řada dalších druhů svého rodu. Náročná diagnostika spočívá v důkladném a nákladném vybavení laboratoře, epidemiologické situaci v zemi a zkušenostech. Určení *Candida auris* jako patogena můžeme pomocí mannanu, CHROMagaru Candida Plus, sekvenování genu DNA, nebo s použitím hmotnostní spektrometrie s ionizací laserem s asistovanou maticí a dobou letu (MALDI – TOF MS) (Warris, 2018), (Mizusawa M, et al., 2017).

7.1. Kandidový antigen mannan

Jedná se o polysacharid buněčné stěny, který lze detekovat v séru nebo jiném materiálu, při invazivní kandidóze. Kvalitativní detekce je založena principu latexové aglutinace a kvantitativní na principu metody ELISA. Cirkulující mannan je nestabilní a je rychle eliminován, proto je senzitivita testů zvyšována průkazem protilátky proti mannanu, tzv. antimannanu metodou ELISA. Problém stanovení může nastat u vyhodnocení pozitivního výsledku, kdy dlouhodobě hospitalizovaný pacient může být kolonizován a můžeme předpokládat zvýšenou přítomnost mannanu v krvi (Kolářová, 2020).

7.2. CHROMagarTM Candida Plus

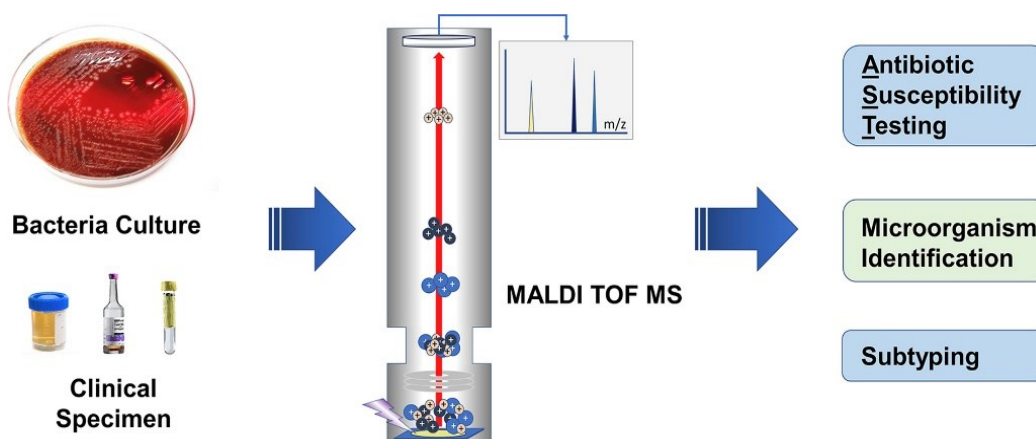
Pro specifickou identifikaci *Candida auris* ze vzorků od pacientů by mohl posloužit nový chromogenní agar. Kolonie *Candida auris* na něm rostou ve světle krémových koloniích s modrým halo (obr č. 9), které difunduje do okolního agaru. Lze je tak odlišit od ostatních druhů a příbuzných rodu, jak můžeme vidět na obrázku číslo 9, kde jsou kultivovány a v jakých barevných koloniích rostou jednotlivé druhy rodu *Candida* na CHROMagaruTM Candida Plus, *Candida albicans* roste v zeleno modrých koloniích, *Candida tropicalis* roste na CHROMagaruTM Candida Plus v koloniích s modrou metalízou a růžovým halo a *Candida krusei* v růžově nadýchaných koloniích (Andrew M Borman, et. al., 2021).



Obrázek 9 - Zobrazuje barevný růst kolonií rodu *Candida* a detailní kolonie *Candida auris* (Andrew M Borman, et. al., 2021)

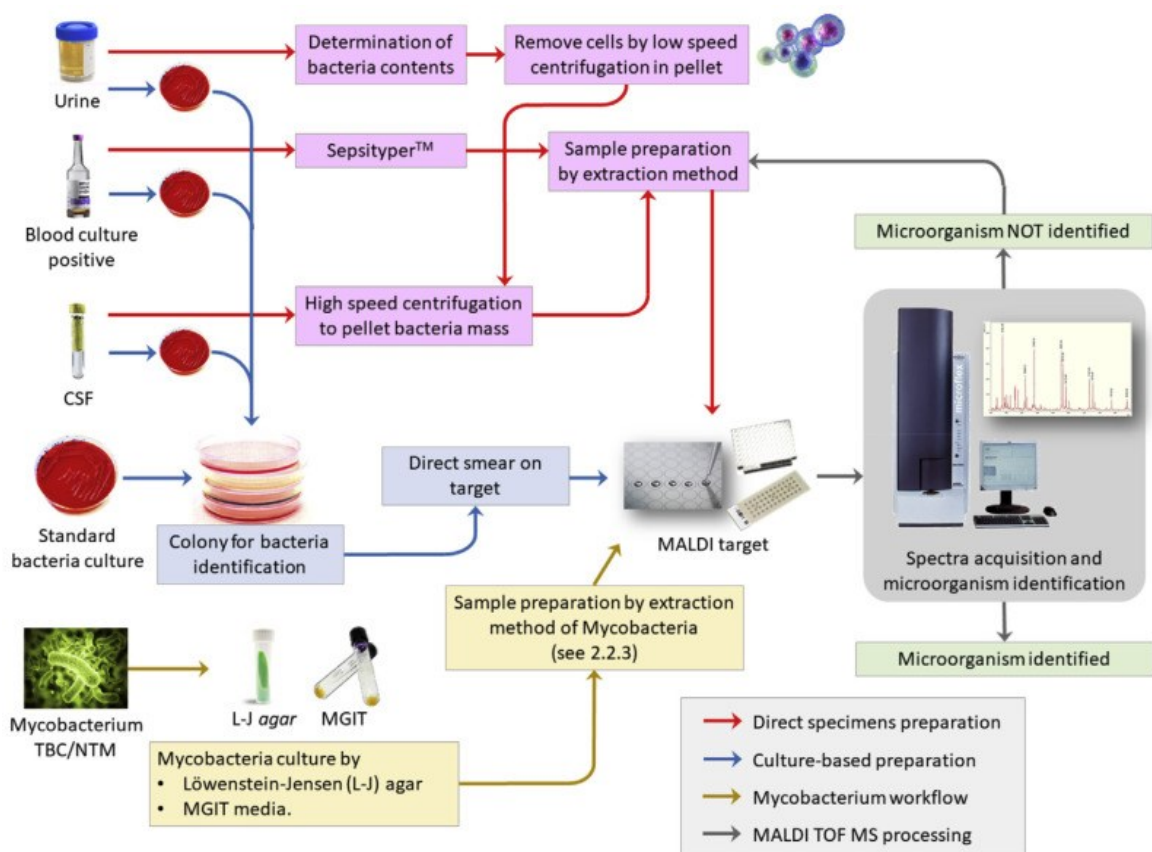
7.3. MALDI – TOF MS

Hmotnostní spektrometr MALDI – TOF s laserovou desorpčí/ionizací za pomoci matrice je jedním z nejpoužívanějších nástrojů analýzy patogena, zejména díky rychlé a přesné identifikaci rodů a druhů. Původce infekce se může v průběhu času měnit, a proto je přesná a rychlá identifikace patogena důležitá, aby byla zahájena včasná a správná terapie. Značná výhoda MALDI se projevuje v preanalytické fázi, kdy vzorek je smíchán s chemickou matricí a následně generuje ionty, které jsou detekovány. Identifikaci charakteristického spektra každého druhu je následně porovnávána s databází přístroje, což můžeme vidět na obrázku 10. Stanovení je tedy hotové za méně než jednu hodinu, na rozdíl od klasické identifikace, která trvá 24 až 48 hodin. Tento čas je kritický zejména pro imunosuprimované pacienty nebo pacienty s autoimunitním onemocněním (Hou TY, et. al., 2019).



Obrázek 10 - Znárodnuje stanovení MALDI – TOF MS včetně následných kroků (Hou TY, et. al., 2019)

Ve většině případů je vzorek pěstován na agarovém médiu, ze kterého je vybrána jedna kolonie, která je aplikována jako tenký film na destičku. Ovšem ne vždy to lze provést některé houby a *Mycobacterium spp.* vyžadují vícestupňové extrakční metody, protože jsou obaleny glykokalyxem nebo kapslí, a nedošlo by k vyextrahování jejich vnitřních proteinů. Vícestupňová extrakce se provádí extrakční metodou ethanol-kyselina mravenčí. Kapalné vzorky, např. pozitivní hemokultura, vyžaduje též vícestupňovou extrakční metodu k odstranění krvinek, kultivačního média, pryskyřice nebo dřevěného uhlí. K odstranění krvinek postačí centrifugace, kdy se vzniklý supernatant odebere k další vysokorychlostní centrifugaci. Krvinky můžeme odstranit pomocí detergentů a následné lýze buněk, které se odstraní centrifugací. Některé kapalné vzorky můžeme stanovovat i přímo ze vzorku bez předchozí kultivace nebo vícestupňové extrakce, takového postupu se využívá i vzorků moči nebo mozkomíšního moku. Obrázek číslo 11 znázorňuje pracovní postupy identifikace mikroorganismů (Hou TY, et. al., 2019).



Obrázek 11 - Popis cesty jednotlivých vzorků při stanovení MALDI – TOF MS (Hou TY, et. al., 2019)

8. Terapie

Při léčbě infekcí způsobené kvasinkou *Candida auris* musíme přistupovat pečlivě a uvážit zdravotní stav pacienta. Závažnost infekcí narůstá s používáním širokospektrých antibiotik, cytostatik a imunosupresiv, které zasahují do imunitních reakcí v těle pacienta. Léčbu komplikuje rozpustnost, stabilita a adsorpce samotného léčiva, nicméně neustále probíhá hledání nových účinných léčiv. Největší problém v léčbě představují rezistence, které byly popsány dříve v kapitole 6. K léčbě se používají antimykotika, která můžeme rozdělit na základě cílového místa a chemické struktury. Při jejich použití je důležité počítat s rozvojem možné rezistence, proto se některá antimykotika podávají současně, aby došlo k synergickému účinku. Mezi používaná léčiva řadíme: azolové přípravky, echinokandiny, polyeny a flucytosin, popřípadě griseofulvin (Goering et. al, 2016). Synergické kombinace léků zvyšují účinnost léčby. V současné době je více než 100 kombinací léků. Mezi známé kombinace můžeme zařadit kombinaci flucytosinu a amfotericinu B, které inhibují růst, dále mikafunginu a vorikonazolu, kdy jejich synergický účinek byl účinný proti všem testovaným izolátům. Stále ale platí, že účinky kombinací léčiv je nutné podpořit studiemi *in vivo* (Tu J, et. al., 2023). *Candida auris* je jediným druhem kvasinek u jejichž izolátů klanů byla prokázána rezistence vůči všem čtyřem třídám antimykotik. V článku z roku 2019 autoři uvádějí, že *téměř polovina izolátů Candida auris je multirezistentní*. Rozmanitá rezistence u *Candida auris je důvodem, proč je to tak impozantní kvasinka*. Podle centra pro kontrolu a prevenci nemocí se doporučuje počátek léčby zahájit echinokandiny a pokud pacient následující dny nereaguje doporučuje se přejít na amfotericin B (Pristov KE, Ghannoum MA, 2019).

8.1. Azoly

Mechanismus účinku azolových antimykotik spočívá v inhibici enzymu lanosterol C14 – demethylasy, který je důležitý pro biosyntézu sterolů. Při léčbě azolovými preparáty dochází k inhibici funkce enzymů buněčné membrány a klesá syntéza ergosterolu. Následkem účinku antimykotika je zástava růstu. Azoly jsou skupina antimykotik se širokým spektrem účinku například: ketokonazol a flukonazol se používají při léčbě systémových mykóz. Výhodou azolů je možnost perorálního podání a reakce s řadou dalších léčiv, která zvýší podíl jejich plazmatické koncentrace, to může pomoci v boji proti stále narůstající azolové rezistenci. Jedná se o poměrně bezpečný lék, díky nízkému počtu nežádoucích účinků. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří zvracení, bolesti hlavy a břicha nebo alergická reakce (Goering et. al, 2016), (Martíková 2018).

8.2. Echinokandiny

Jedná se o antimykotika jejichž účinkem je inhibice enzymu β -(1,3) -D-glukansyntasy, který je důležitý pro syntézu základní složky buněčné stěny. U kandidóz dochází k osmotické nestabilitě a lýze samotné kvasinky. Významnou vlastností echinokandinů je pozdržení účinku antimykotika v čase, kdy dochází k obnově buněčné stěny. Podmínkou je koncentrace antimykotika musí převyšovat hodnotu MIC. Další významnou vlastnost je schopnost bránit tvorbě biofilmu na katetru či jiném umělém povrchu zavedeném do těla. Rezistence proti echinokandinům je spojená s geny kódující glukán syntazu. Echinokandiny mají malou molekulu a eliminují se v játrech. V játrech dosahují stejných hodnot koncentrace jako koncentrace echinokandinů v plazmě. Nežádoucí účinky nejsou závažné, může se objevit zvýšená aktivita AST, ALT a hypokalemie (Goering et. al, 2016).

8.3. Polyeny

Skupina antimykotik, kde nejznámějšími jsou Amfotericin B a nystatin. Pro jejich použití je důležitá přítomnost ergosterolu a schopnost vyvářet vazby, protože po vazbě amfotericinu B na ergosterol dojde k změně permeability buněčné stěny a tvorbě pórů. Těmito póry poté unikají do zevního prostředí důležité ionty, aminokyselin, nízkomolekulární peptidy a další látky. Díky zvýšené permeabilitě naopak je umožněn intracelulární vstup kyslíkatých látek a léků do buňky, zvyšuje se kyselost cytoplazmy a jsou omezovány enzymatické funkce. Tento stav nakonec vyústí ve smrt buňky (Goering et. al, 2016).

Antimykotikum je dostupné jako koloidní roztok amfotericin B cholesteryl sulfát nebo deoxycholát sodný. Vhodné podání terapeutika je přímo do žíly, kde se váže na krevní bílkoviny a je transportován do tkání. Nežádoucí účinky se mohou projevit bezprostředně po podání nebo později. Mezi nejčastější bezprostřední účinky patří: bolesti hlavy, zvracení a hypotenze. Tyto nežádoucí účinky lze ovlivnit zpomalením podávání léčiva (popř. využitím analgetik). Opožděné účinky se týkají postižení ledvin. Ovlivnit mohou prokrvení ledvin, postižení tubulů a způsobit dysfunkci orgánu (Martíková 2018).

8.4. Flucytosin a Griseofulvin

Posledním antimykotikem je flucytosin, jehož účinek mechanismu spočívá v deaminování 5 – flucytosinu na 6 – fluoruracil, který inhibuje syntézu DNA. Flucytosin je účinný pouze u kvasinek a rezistence vzniká rychle. Proto se doporučuje jeho použití v kombinaci s Amfotericinem B. Podobný účinek má i Griseofulvin, který nejspíše inhibuje syntézu nukleové kyseliny a tvorbu mikrotubulů (Martíková 2018).

8.5. Výzkum nových látek

V současné době probíhá výzkum nových látek, které by mohly být vysoce účinné v boji proti *Candida auris*. U řady z nich bylo zahájeno jejich klinické testování, které se nachází v různých fázích. Podle studie ze Spojených států je ve fázi klinického vývoje inhibitor glukán syntázy – tzv. Rezafungin, což je derivát echinokandinu. Ve srovnání s dostupnými antimykotiky, které též pochází ze skupin echnikandiny, má lepší bezpečnostní záruky, delší poločas rozpadu a umožňuje jednorázové týdenní podání intravenózně. V testu na citlivost bylo zkoumáno 100 izolátů *Candida auris*. Výsledné hodnoty MIC se pohybovaly mezi 0,03 do 8 µg/ml. Druhým lékem, který patří do této kategorie inhibitorů glukán syntázy, je Ibrexafungerp který dokonce inhibuje izoláty rezistentní na echinokandiny. Podávat se může jak perorálně, tak i intravenózně. Hodnoty MIC, při testech na citlivost, kdy bylo zkoumáno 100 izolátů, se pohybovaly 0,0625 do 2µg/ ml. Navíc nejenom, že inhibuje glukán syntázu, ale přerušuje buněčné dělení a inhibuje tvorbu biofilmu nebo jeho tloušťku. Ibrexafungerp se v současné době nachází ve druhé fázi klinických studií. Ve třetí fázi klinické studie se bude zkoumat použití léku a zdali vyléčí pacienty bez nežádoucích účinků. Dalším novým lékem je Manogepix, který je inhibitorem funkce přenosového proteinu stěny. Vykazuje širokospektré antimykotické aktivity a jeho hodnoty MIC byly v rozmezí 0,002 – 0,063 µg/ml. Aktivita léku byla poté ověřena na velké sbírce izolátů *Candida auris*, která obsahovala 100 geograficky odlišných izolátů. Fosmanogepix prokázal silnou účinnost *in vivo* při léčbě infekcí než kaspofungin. Zajímavostí je, že v roce 2019 byla zahájena otevřená klinická studie pro léčbu pacientů nakažené *Candidou auris*, bohužel vlivem pandemie COVID-19 byla studie ukončena a výsledky nebyly doposud zveřejněny (Tu J, et. al., 2022).

8.6. Dezinfekce a *Candida auris*

Pro hygienu rukou doporučuje Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí Spojených států amerických mytí mýdlem a vodou, nebo použití dezinfekčních prostředků na bázi alkoholu před a po použití rukavic. Podobné doporučení vydaly i jiné instituce. Zatím neexistují metody dekolonizace nebo odstranění *Candida auris* z kůže. Následující odstavce shrnují dosavadní poznatky o dezinfekci kůže (Omardien S, et. al., 2024).

8.6.1. Chlorhexidin

Látka, která je často používána v produktech zaměřených na dezinfekci kůže, a je účinná proti druhům rodu *Candida*. Chlorhexidin je biocidní přípravek, který se svým účinkem zaměřuje na membránu. Moore a kol. provedli výzkum, kdy hodnotili účinnost chlorhexidinu proti *Candida auris*. Testovali dva produkty, kdy jeden obsahoval 2 % chlorihexidinu s 70 % isopropylalkoholu, a druhý, který obsahoval pouze 4 % chlorihexidinu. Oba produkty byly ředěny o 50 % přidáním vody a doba kontaktu byla od 30 s pro 2 min. Výsledek výzkumu prokázal, že naředěný produkt, který obsahoval chlorihexidin a izopropylalkohol, vykazoval vyšší účinnost po 2 min kontakt než produkt druhý. Další výzkum provedený Rutala a kol. potvrdil špatnou účinnost samotného chlorihexidinu proti *Candida auris*. Oba výzkumy se shodují, že samotný chlorihexidin je minimálně účinný, ale v kombinaci s alkoholem by se jeho účinek mohl výrazně zlepšit (Omardien S, et. al., 2024).

8.6.2. Prostředky na alkoholové bázi

U přípravků a prostředků k dezinfekci rukou nebo pokožky na bázi alkoholu se předpokládá, že se alkohol zaměřuje na buněčnou membránu. Rutala a kol. provedli studii, kde použili diskový kvantitativní test nosiče se znečištěným prostředím. Doba kontaktu byla 1 min. Studie poskytla zajímavé informace, kdy se prokázalo, že první přípravek, který obsahoval 70 % isopropylalkoholu byl účinný proti *Candida auris*, ale druhý zkoumaný přípravek na bázi ethanolu byl ještě účinnější. Obdobnou studii provedli Fu a kol. Kdy hodnotili účinnost přípravků na alkoholové bázi pomocí modelu prasečí kůže (Omardien S, et. al., 2024).

8.6.3. Další prostředky

K dezinfekci se používají i přípravky bez chlorhexidinu nebo alkoholu, např. povion – jod, který není tak účinný při krátkém působení. Pokud se doba působení zvýší na 2 min. přípravek poskytuje dostatečnou účinnost (Omardien S, et. al., 2024).

8.7. Ultrafialové záření a inaktivace *Candida auris*

Výzkum z druhé poloviny roku 2023 se zaměřil na vliv mobilního ultrafialového záření na eradikaci *Candida auris*. Odolnost patogena byla představena v předchozích kapitolách a eradikace takto odolného patogena je nutná, aby se zamezilo šíření. Testování v komoře o rozměrech nemocničního pokoje dosáhlo úspěšnosti 99,97 % za méně než 7 minut. Výjimečnost systému je v jeho žárovkách, které jsou *kalibrované pro vyzařování na germicidní vlnové délce 254 nm a optimalizovaných reflektorech*, díky nimž je znásobí záření v místnosti. Systém použitý v tomto výzkumu by mohl být v budoucnu použit jako doplněk ke stávajícím protokolům desinfekce a kontrol infekcí. Nevýhodou je, že systém vyžaduje zcela neobsazené místnosti, bez pacientů, a personál, který má dostatečné proškolení, proto zkrácený čas vystavení nebo jakákoliv překážka, může zapříčinit nedostatečnou desinfekci (Koutras C, Wade RL, 2024).

9. Kazuistiky

9.1. První případ

Kvasinka *Candida auris* byla poprvé popsána v roce 2009 v Japonsku ze stěru zevního zvukovodu. Pokrokem technologií mohlo dojít k přezkoumání a pomocí sekvenování DNA izolátů krevního řečiště bylo zjištěno, že nejstarší nález byl datován do roku 1996. Od roku 2009 jsou hlášeny případy z téměř všech kontinentů. Hlavní problematikou zůstává obtížná detekce, která může být příčinou falešně negativních výsledků (Warris, 2018).

9.2. Covid – 19 a *Candida auris*

Akutní respirační syndrom coronavirus – 2, virus s čeledi *Coronaviridae* vyústil v globální pandemii infekce Covidu – 19. Klinické projevy jsou bezpříznakové, mírné ale mohou vyústit v těžkou hypoxii až multiorgánové selhání, smrt. V současné době je známých pět variant viru, čímž poslední varianta Omicron zasáhla svět v listopadu roku 2021 a zůstává stále globální hrozbou. Od začátku pandemie došlo ke zvýšenému počtu hospitalizovaných pacientů s infekcí rodu *Candida* a pozitivním nálezem Covidu – 19, ovšem k potvrzení, zdali se jedná o souběžný stav zatím nedošlo. Lze tak předpokládat, že ke kandidóze, tedy sekundární infekci, dochází až po expozici viru. U pacientů, kteří nebyli pozitivně diagnostikováni na Covid -19, byl výskyt *Candida auris* výrazně nižší než u kriticky ohrožených pacientů s pozitivně diagnostikovanou infekcí Covidu – 19, kteří byli připojeni na mechanickou ventilaci, centrální žilní katetr nebo užívali imunosupresiva či kortikosteroidy. Na Tchaj-wanu byl mezi hospitalizovanými pacienty s Covidu – 19 hlavním patogenem, který vedl k rychlé progresi a následné smrti rodu *Candida*. V Kolumbii během pětiletého laboratorního sledování *Candida auris* před pandemií, konkrétně v letech 2016 až 2020, bylo z celkových 1720 izolátů 35% rezistentní na flukonazol, 33 % na amfotericin B a 12 % bylo multirezistentní. V Itálii na základě sekvenování celého genomu vyvstala otázka, zdali za šíření multirezistentní *Candida auris* pomoci pandemie Covidu – 19. Strategie léčby zůstává stejná jako před pandemií Covidu – 19. U méně vážně onemocněných pacientů a pacientů, u kterých nehrozí riziko azolové rezistence, je lékem první volby flukonazol. Ovšem u pacientů, kteří jsou v kritickém stavu, nebo byly nedávno vystaveni azolovým preparátům, či je u nich vysoké riziko rezistence na flukonazol, se podávají echinokandiny. Echinokandiny jsou účinné proti multirezistencí *Candida auris* ovšem i léčba těmito antimykotiky může selhat, a v takovém případě při přetrvávající kandidóze, se na volbu dostává lipozomální amfotericin B nebo deoxycholát amfotericinu B, ovšem nesmí u nich být prokázána rezistence. Aby se zabránilo šíření *Candida auris* mezi pacienty, u kterých byl diagnostikován virus Covidu – 19, jsou přesně

navrženy postupy kontrol a screening pacientů, kteří nebyli pozitivně diagnostikováni. Léčba je i nadále náročná a nebezpečná, protože *Candida auris* vykazuje rezistenci proti široké škále léčiv, což může zapříčinit sporadické výskyty nebo propuknutí v řadě zemí. V současné době je několik nových antimykotik v třetí fázi výzkumu. V budoucnu by se mohla tradiční antimykotika kombinovat s novými a dát vzniknout účinnější léčbě (Tsai CS, et. al., 2023).

9.3. První případ v České republice


Do dnešního dne můžeme říct, že u nás v republice byl potvrzen a testován na citlivost jeden případ kolonizace *Candida auris*. ” Kmen byl izolován 17. 8. 2022 ve Fakultní nemocnici Motol (Praha) od 78leté pacientky ze vzorku moči. U pacientky byla zjištěna hematurie a byla hospitalizována pro ischemickou chorobou dolních končetin (k cévně – chirurgické intervenci). Nejednalo se o infekci, ale o náhodný nález. Pacientka nebyla léčena antimykotiky. Při dodatečném screeningu kolonizace byl kmen zachycena z kůže v oblasti třísel a axily. Kmen původně vyrostl na kultivační půdě CLED používané pro rutinní kultivaci moči ve směsi s dalšími druhy kvasinek. Kmen byl izolován na Sabouraudův agar (Oxoid) a chromogenní agar Candiselect. Pro identifikaci byla použita hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (Bruker). Citlivost byla stanovena diluční mikrometodou s využitím komerční soupravy Sensititre Yeast One a k interpretaci výsledků se využívají kritéria systému CLSI (klinické breakpointy nebo epidemiologické předěly tam, kde jsou k dispozici). Naměřené hodnoty minimální inhibiční koncentrace antimykotik – tabulka 1. (MUDr. LŽIČAŘOVÁ, 2024). ”

Flukonazol	256 mg/l
Itrakonazol	0,25 mg/l
Vorikonazol	2 mg/l
Posakonazol	0,06 mg/l
5 – fluorocytosin	0,06 mg/l
Caspofungin	0,06 mg/l
Micanfungin	0,06 mg/l
Andulafunin	0,12 mg/l
Amfotericin B	0,5 mg/l

Tabulka 1 - Hodnoty minimální inhibiční koncentrace v mg/l

9.4. Kontakt *Candida auris* s hostitelem

Candida auris roste na lidské kůži, ale do hlubších vrstev se dostane až po fyzickém narušení bariéry, není tomu tak u kůže myši. Ve výzkumu, kde se vědci zaměřili na *modely infekce ran pomocí ex vivo vzorků*. Jako modelové infekce ran byly použity případy běžně se vyskytující v nemocnicích, např. popáleniny, katetry, dekubity, dermatitida. Bylo prokázáno, že pro proniknutí do hlubších vrstev myši kůže není potřeba porušení bariéry. Jednou z možností vysvětlení rozdílu je, že myši kůže má dostatek vlasových folikulů a cesta skrz ně je usnadněna. Ve výzkumu byla k porovnání výsledků využita *Candida albicans*. Lidskou kůži zde zastupovaly vzorky kůže dospělé a fetální, jak můžeme vidět na obrázku 12. Z obrázku je patrné, že pro k proniknutí do lidské kůže je potřeba porušení kožní bariéry zatím co u myši není potřeba. V případě fetální kůže nebylo možné prokázat invazi po proniknutí skrz kůži. *Candida auris* je na obrázku zastoupena zeleně, *Candida albicans* modře.

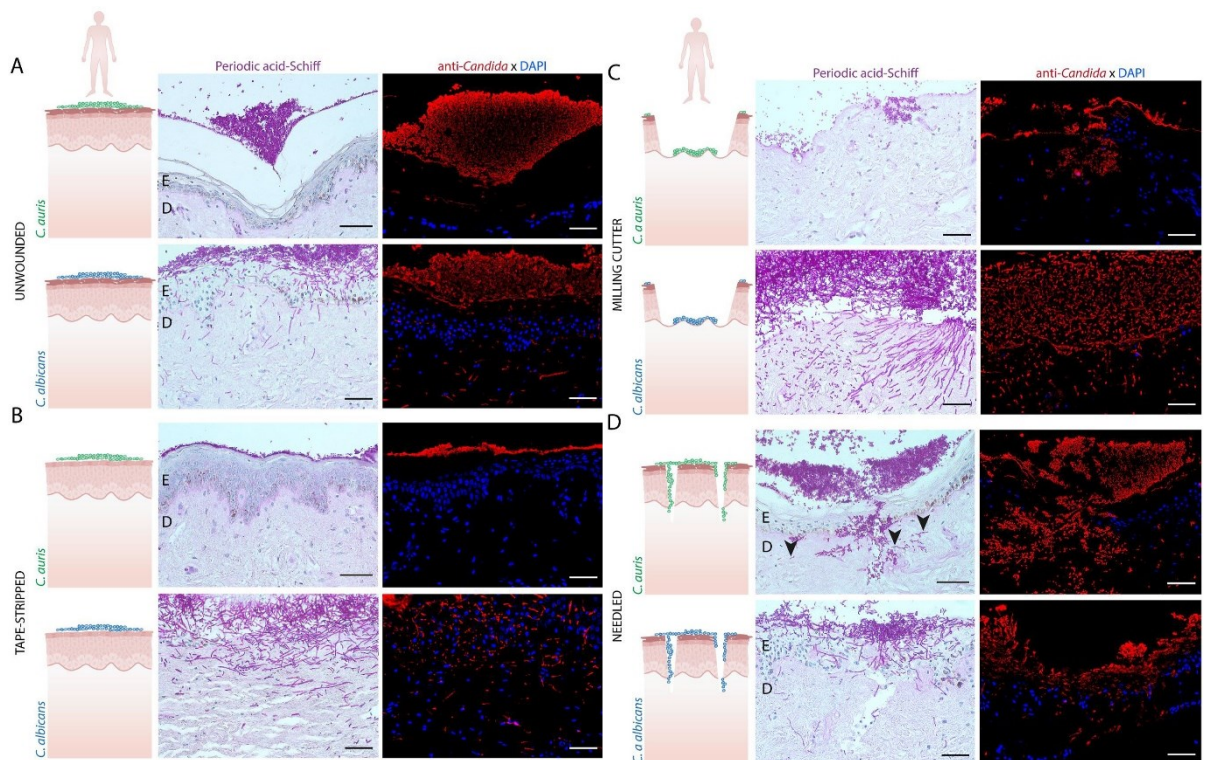


	Human (green)	Fetal (blue)	Human (green)	Fetal (blue)	Human (green)	Fetal (blue)
Invasion of unwounded skin	—	✓	—	✓	✓	✓
Invasion of wounded skin	✓	✓	n/a	n/a	✓	✓

Obrázek 12 - Schéma infekce ran *Candida auris* a *Candida albicans* (Seiser S et. al, 2024)

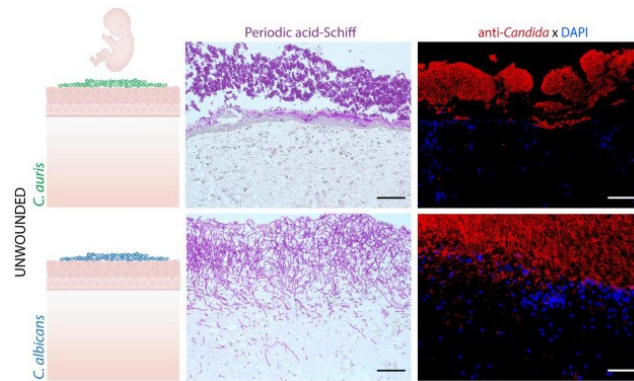
Vzorky kůže (dospělé a fetální) byly odebrány legální cestou od anonymních zdravých dárců s jejich informovaným souhlasem. Vzorek myši kůže byl odebrán z myši divoké. Kultivační destičky byl inkubovány pro 37 °C v 5 % CO₂ 72 hodin. Poté byly odebrány vzorky, které byly fixovány ve formaldehydu, zality do parafinu a podrobeny histologickému barvení. Každý ze vzorků se barvil dvěma metodami. První řez byl barven mocí kyseliny jodisté, Schiffova činidla, dobarven hematoxylinem a ošetřen kyselinou chlorovodíkovou. Druhý řez, byl barven imunofluorescenčně. Na deparafinovaný řez bylo aplikován roztok pro získání antigenu, a pro promytí sklíček, bylo na řez aplikováno anti-*Candida* sérum, inkubace přes noc. Druhý den byla aplikována sekundární protilátka a inkubována 1 hodinu. Řez byl poté promyt, překryt a prohlížen pod fluorescenčním mikroskopem. Na obrázku 13 můžeme vidět jednotlivé snímky z mikroskopu, kdy první 4 snímky v oddíle A ukazují neporušenou lidskou kožní

bariéru. Opět byla použita *Candida albicans* pro porovnání. *Candida auris* nebyla schopna prolomit bariéru a kolonie se zdržovaly v záhybech a nepravidelnostech kůže. Oproti tomu srovnávací kvasinka *Candida albicans* kolonizovala celý povrch kůže i záhyby a zároveň pronikla kožní bariérou. Na následujících snímkách v oddíle B můžeme vidět příklad infikované rány, konkrétně se jedná o strženou pásku. Ze snímků je zřejmé, že kožní bariéra nebyla *Candidou auris* proražena, a k infekci hlubších vrstev nedošlo. Byla pozorována změna, kdy *Candida auris* rostla rovnoměrně, a nejen v záhybech, co napodobovalo kolonizaci kůže. *Candida albicans* silně kolonizovala kůži a pronikla skrz kožní bariéru. Zajímavé výsledky poskytly snímky série C a D, kdy se jednalo o infekci kůže, tzv. frézu a vpich. V případě snímků z oddílu C byla vrchní vrstva kůže – epidermis zcela odstraněna frézou. Bylo pozorována občasná invaze *Candida auris* do spodních vrstev, ale téměř chyběla povrchová kolonizace *Candida auris*. Úplným opakem byla srovnávací kvasinka, která kolonizovala spodní vrstvy ve vysoké hustotě. V posledním oddíle D můžeme pozorovat první potvrzení, že *Candida auris* je schopna proniknout kůží. Výsledek byl získán jehlováním, což je metoda kdy se vytváří mikrorány, které zasahují hlubších vrstev kůže. Kvasinka pronikla do kůže přes mikro otvory. Oproti tomu *Candida albicans* neprojevila zvýšenou invazi, naopak hodnota odpovídala jako u vzorku s neporaněnou tkání.



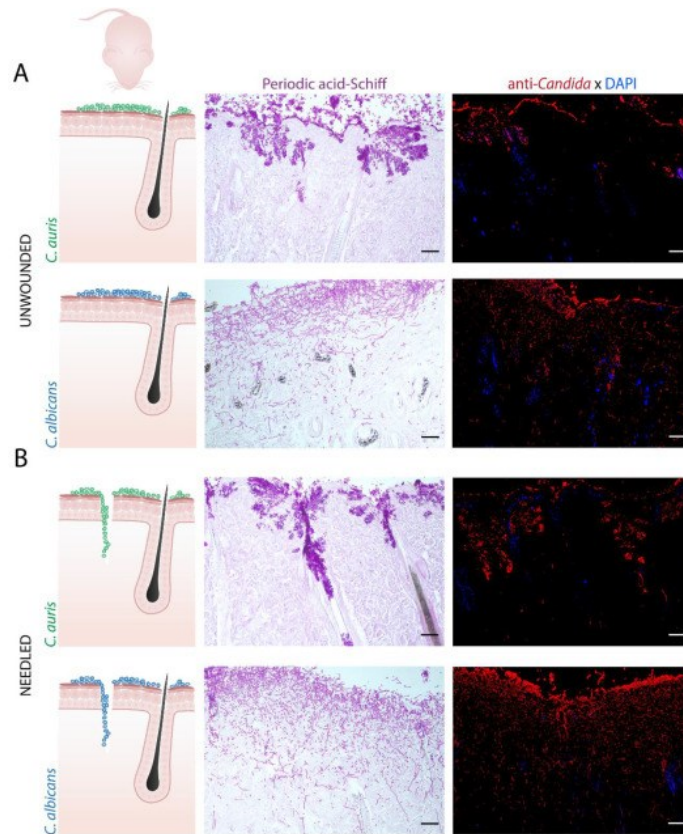
Obrázek 13 - Snímky z mikroskopů – lidská kůže (Seiser S et. al., 2024)

Na obrázku 14 jsou snímky fetální kůže, kdy tato kůže nemá ještě vyvinuté kožní záhyby, ve kterých by docházelo k největšímu nárůstu kolonií. Oproti tomu byly kolonie rovnoměrně rozprostřeny. Můžeme pozorovat odlišnost mezi jednotlivými patogeny *Candida auris* nepronikla kůží ani po 15 týdnech, zatím c *Candida albicans* pronikla hluboce se rozšířila stejně jako u dospělého.



Obrázek 14 - Snímky z mikroskopů – fetální kůže (Seiser S et. al, 2024.)

Posledním zkoumaným typem kůže byla myš, kdy na obrázku 15 můžeme pozorovat proniknutí jak neporaněnou kůží (A), tak i poraněnou (B). Rozdílem v kolonizaci bylo, že *Candida auris* vstupovala do kůže, v jakých si mráčkách, zatím co *Candida albicans* pronikla skrz. Cestu přes vlasové folikuly využila *Candida auris*, ale od určité doby v hlubších vrstvách se jejich postup zastavil a zdál se jako neúčinný (Seiser S et. al., 2024).



Obrázek 15 - Snímky z mikroskopů – myší kůže (Seiser S et. al., 2024)

ZÁVĚR

Ať je *Candida auris* více či méně nebezpečná, tak základní hygienické návyky a dostatečná dezinfekce zamezí jejímu šíření a přenosu. Tím se sníží počet infikovaných pacientů. V době širokospektrých antibiotik, kterými léčíme většinu infekcí, aniž by k jejich užití byl důvod, je vznik takto rezistentní kvasinky naprosto pochopitelný a přirozený. Věřím, že v následujících letech se díky studiím a řadě výzkumů o této kvasnici dozvíme mnohem více a přijdeme na mnoho způsobů, jak se s ní vypořádat.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Andrew Borman AM, Fraser M, Johnson EM. CHROMagar™ Candida Plus: A novel chromogenic agar that permits the rapid identification of *Candida auris*. *Med Mycol*. 2021 Mar 4;59(3):253-258
2. Carty J, Chowdhary A, Bernstein D, Thangamani S. Tools and techniques to identify, study, and control *Candida auris*. *PLoS Pathog*. 2023 Oct 19;19(10):e1011698
3. Cortegiani A, Misseri G, Fasciana T, Giammanco A, Giarratano A, Chowdhary A. Epidemiology, clinical characteristics, resistance, and treatment of infections by *Candida auris*. *J Intensive Care*. 2018 Oct 29;6:69
4. Cristina ML, Spagnolo AM, Sartini M, Carbone A, Oliva M, Schinca E, Boni S, Pontali E. An Overview on *Candida auris* in Healthcare Settings. *J Fungi (Basel)*. 2023 Sep 8;9(9):913
5. Dang-Vu T, Lam-Quoc D, Duong-Minh N, Vu H, Nguyen-Ho L, Truong-Thien P, Nguyen-Dang K. The First Report of *Candida Auris* Infection in Vietnam. *Eur J Case Rep Intern Med*. 2024 Feb 12;11(3):004335
6. De Souza CM, Dos Santos MM, Furlaneto-Maia L, Furlaneto MC. Adhesion and biofilm formation by the opportunistic pathogen *Candida tropicalis*: what do we know? *Can J Microbiol*. 2023 Jun 1;69(6):207-218
7. Desoubeaux G, Coste AT, Imbert C, Hennequin C. Overview about *Candida auris*: What's up 12 years after its first description? *J Mycol Med*. 2022 May;32(2):101248
8. Du H, Bing J, Hu T, Ennis CL, Nobile CJ, Huang G. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. *PLoS Pathog*. 2020 Oct 22;16(10):e1008921
9. GOERING, Richard V., Hazel M. DOCKRELL, Mark A. ZUCKERMAN, Ivan M. ROITT a Peter L. CHIODINI, JULÁK, Jaroslav, ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0
10. Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM. Current Aspects in the Biology, Pathogeny, and Treatment of *Candida krusei*, a Neglected Fungal Pathogen. *Infect Drug Resist*. 2020 Jun 10;13:1673-1689

11. Gustavo Bravo Ruiz G, Lorenz A. What do we know about the biology of the emerging fungal pathogen of humans *Candida auris*? *Microbiol Res.* 2021 Jan;242:126621
12. Hinrichs C, Wiese-Posselt M, Graf B, Geffers C, Weikert B, Enghard P, Aldejohann A, Schrauder A, Knaust A, Eckardt KU, Gastmeier P, Kurzai O. Successful control of *Candida auris* transmission in a German COVID-19 intensive care unit. *Mycoses.* 2022 Jun;65(6):643-649
13. Hou TY, Chiang-Ni C, Teng SH. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *J Food Drug Anal.* 2019 Apr;27(2):404-414
14. Chowdhary A, Anil Kumar V, Sharma C, Prakash A, Agarwal K, Babu R, Dinesh KR, Karim S, Singh SK, Hagen F, Meis JF. Multidrug-resistant endemic clonal strain of *Candida auris* in India. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014 Jun;33(6):919-26
15. Kean R, Brown J, Gulmez D, Ware A, Ramage G. *Candida auris*: A Decade of Understanding of an Enigmatic Pathogenic Yeast. *J Fungi (Basel).* 2020 Feb 26;6(1):30
16. Kohlenberg A, Monnet DL, Plachouras D; *Candida auris* survey collaborative group; *Candida auris* survey collaborative group includes the following national experts. Increasing number of cases and outbreaks caused by *Candida auris* in the EU/EEA, 2020 to 2021. *Euro Surveill.* 2022 Nov;27(46):2200846
17. Kohlenberg A, Struelens MJ, Monnet DL, Plachouras D; *Candida auris* survey collaborative group. *Candida auris*: epidemiological situation, laboratory capacity and preparedness in European Union and European Economic Area countries, 2013 to 2017. *Euro Surveill.* 2018 Mar;23(13):18-00136
18. KOLÁŘOVÁ, Libuše. *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha:Galén, [2020]. ISBN 978-80-7492-477-4
19. Koutras C, Wade RL. Ultraviolet-C mediated inactivation of *Candida auris*, a rapid emerging health threat. *Am J Infect Control.* 2024 Jan;52(1):133-135
20. Larkin E, Hager C, Chandra J, Mukherjee PK, Retuerto M, Salem I, Long L, Isham N, Kovanda L, Borroto-Esoda K, Wring S, Angulo D, Ghannoum M. The Emerging Pathogen *Candida auris*: Growth Phenotype, Virulence Factors, Activity of Antifungals, and Effect of SCY-078, a Novel Glucan Synthesis Inhibitor, on Growth Morphology and Biofilm Formation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Apr 24;61(5):e02396-16
21. MUDr. LŽIČAŘOVÁ Daniela, Oddělení bakteriologie a mykologie 2. LF UK a FN Motol, [písemná zpráva], Praha, 26.03.2024
22. MARTÍNKOVÁ, Jiřina. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů. 2., zcela přepracované a doplněné vydání*. Praha: Grada, 2018. ISBN 978-80-247-4157-4

23. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013 Feb 15;4(2):119-28 Epub 2013 Jan 9
24. Mizusawa M, Miller H, Green R, Lee R, Durante M, Perkins R, Hewitt C, Simner PJ, Carroll KC, Hayden RT, Zhang SX. Can Multidrug-Resistant *Candida auris* Be Reliably Identified in Clinical Microbiology Laboratories? *J Clin Microbiol*. 2017 Feb;55(2):638-640
25. Omardien S, Teska P. Skin and hard surface disinfection against *Candida auris* - What we know today. *Front Med (Lausanne)*. 2024 Feb 7;11:1312929
26. Plachouras D, Lötsch F, Kohlenberg A, Monnet DL; *Candida auris* survey collaborative group. *Candida auris*: epidemiological situation, laboratory capacity and preparedness in the European Union and European Economic Area*, January 2018 to May 2019. *Euro Surveill*. 2020 Mar;25(12):2000240
27. Prasetyoputri A, Jarrad AM, Cooper MA, Blaskovich MAT. The Eagle Effect and Antibiotic-Induced Persistence: Two Sides of the Same Coin? *Trends Microbiol*. 2019 Apr;27(4):339-354
28. Prażyńska M, Zalas-Więcek P, Bogiel T, Włodarczyk Z, Deptuła A, Woźniak M, Gospodarek-Komkowska E. *Candida auris* Infection in a Meningococcal Septicemia Survivor, Poland. *Mycopathologia*. 2023 Apr;188(1-2):135-141
29. Pristov KE, Ghannoum MA. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clin Microbiol Infect*. 2019 Jul;25(7):792-798
30. Rabaan AA, Eljaaly K, Alfouzan WA, Mutair AA, Alhumaid S, Alfaraj AH, Aldawood Y, Alsaleh AA, Albayat H, Azmi RA, AlKaabi N, Alzahrani SJ, AlBahrani S, Sulaiman T, Alshukairi AN, Abuzaid AA, Garout M, Ahmad R, Muhammad J. Psychogenetic, genetic and epigenetic mechanisms in *Candida auris*: Role in drug resistance. *J Infect Public Health*. 2023 Feb;16(2):257-263
31. Seiser S, Arzani H, Ayub T, Phan-Canh T, Staud C, Worda C, Kuchler K, Elbe-Bürger A. Native human and mouse skin infection models to study *Candida auris*-host interactions. *Microbes Infect*. 2024 Jan-Feb;26(1-2):105234
32. Sherry L, Ramage G, Kean R, Borman A, Johnson EM, Richardson MD, Rautemaa-Richardson R. Biofilm-Forming Capability of Highly Virulent, Multidrug-Resistant *Candida auris*. *Emerg Infect Dis*. 2017 Feb;23(2):328-331
33. Stanciu AM, Florea D, Surleac M, Paraschiv S, Oțelea D, Tălăpan D, Popescu GA. First report of *Candida auris* in Romania: clinical and molecular aspects. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2023 Sep 7;12(1):91

34. Sticchi C, Raso R, Ferrara L, Vecchi E, Ferrero L, Filippi D, Finotto G, Frassinelli E, Silvestre C, Zozzoli S, Ambretti S, Diegoli G, Gagliotti C, Moro ML, Ricchizzi E, Tumietto F, Russo F, Tonon M, Maraglino F, Rezza G, Sabbatucci M. Increasing Number of Cases Due to *Candida auris* in North Italy, July 2019- December 2022. *J Clin Med*. 2023 Feb 28;12(5):1912
35. Tsai CS, Lee SS, Chen WC, Tseng CH, Lee NY, Chen PL, Li MC, Syue LS, Lo CL, Ko WC, Hung YP. COVID-19-associated candidiasis and the emerging concern of *Candida auris* infections. *J Microbiol Immunol Infect*. 2023 Aug;56(4):672-679
36. Tu J, Liu N, Huang Y, Yang W, Sheng C. Small molecules for combating multidrug-resistant superbug *Candida auris* infections. *Acta Pharm Sin B*. 2022 Nov;12(11):4056-4074
37. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
38. Wagener J, Loiko V. Recent Insights into the Paradoxical Effect of Echinocandins. *J Fungi (Basel)*. 2017 Dec 28;4(1):5
39. Wall G, Montelongo-Jauregui D, Vidal Bonifacio B, Lopez-Ribot JL, Uppuluri P. *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. *Curr Opin Microbiol*. 2019 Dec;52:1-6
40. Wang X, Zhang W, Wu W, Wu S, Young A, Yan Z. Is *Candida albicans* a contributor to cancer? A critical review based on the current evidence. *Microbiol Res*. 2023 Jul; 272:127370
41. Warris A. *Candida auris*, what do paediatricians need to know? *Arch Dis Child*. 2018 Sep;103(9):891-894
42. Watkins RR, Gowen R, Lionakis MS, Ghannoum M. Update on the Pathogenesis, Virulence, and Treatment of *Candida auris*. *Pathog Immun*. 2022 Oct 21;7(2):46-65