

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Invazivní aspergilóza
Bakalářská práce

2024

Hana Stejskalová

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Hana Stejskalová**
Osobní číslo: **C21221**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Invazivní aspergilóza**
Téma práce anglicky: **Invasive Aspergillosis**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na invazivní aspergilózu.
2. Zaměřte se na obecnou charakteristiku zástupců rodu *Aspergillus*, kteří mohou toto onemocnění vyvolat. Dále u nich popište výskyt, patogenezi. Detailně se věnujte popisu klinických příznaků onemocnění, popište rizikové skupiny pacientů.
3. Zpracujte jednotlivé kazuistiky výskytu onemocnění v ČR a ve světě především za posledních deset let.
4. Z publikovaných studií uveďte konkrétní příklady diagnostiky onemocnění a dosažené výsledky léčby příp. prevence jednotlivých studií zhodnoťte.
5. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 ve znění dodatku č. 2 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu 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: **Ing. Petra Motková, 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

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Invazivní aspergilóza 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 1. 7. 2024

Hana Stejskalová v. r.

Poděkování

Děkuji paní Ing. Petře Mořkové, Ph.D. za odborné vedení, připomínky, cenné rady a trpělivost během psaní mé bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za trpělivost a podporu během studia.

ANOTACE

Bakalářská práce je věnována tématu invazivní aspergilózy. Podrobně jsou popsány jednotlivé druhy rodu *Aspergillus* vyvolávající toto onemocnění. Práce zahrnuje možnosti diagnostiky a nejčastější příznaky různých forem invazivní aspergilózy. Jedna kapitola je věnována léčbě, včetně lékových rezistencí a prevenci.

KLÍČOVÁ SLOVA

Invazivní aspergilóza, *Aspergillus*, galaktomanan, vorikonazol

ANOTATION

This bachelor's thesis focuses on the topic of invasive aspergillosis. Individual species of the genus *Aspergillus* causing this disease are described in detail. The work includes diagnostic possibilities and the most common symptoms of various forms of invasive aspergillosis. One chapter is devoted to treatment, including drug resistance and prevention.

KEY WORDS

Invasive aspergillosis, *Aspergillus*, galactomannan, voriconazole

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	8
SEZNAM ZKRATEK	9
ÚVOD.....	10
1. Historie.....	11
2. Rod <i>Aspergillus</i>	12
2.1. <i>Aspergillus fumigatus</i>	13
2.2. <i>Aspergillus flavus</i>	14
2.3. <i>Aspergillus terreus</i>	15
2.4. <i>Aspergillus niger</i>	16
3. Invazivní aspergilóza	18
3.1. Mechanismus účinku	18
3.2. Příznaky a rizikové pacienti	19
3.3. Formy invazivní aspergilózy	19
3.3.1. Invazivní plicní aspergilóza	19
3.3.2. Invazivní aspergilóza postihující centrální nervovou soustavu	20
3.3.3. Invazivní kardiální aspergilóza.....	21
3.3.4. Invazivní kožní aspergilóza	21
3.4. Diagnostika	22
3.4.1. Odběr materiálu	22
3.4.1.1. Biopsie	23
3.4.1.2. Bronchoalveolární laváž	23
3.4.1.3. Odběr mozkomíšního moku.....	24
3.4.2. Průkaz galaktomananu	24
3.4.3. Polymerázová řetězová reakce.....	24
3.4.4. Kultivace	25
3.4.5. Mikroskopie	26
3.4.6. Neinvazivní techniky	27
3.4.6.1. Počítačová tomografie	27
3.5. Výskyt ve světě	29
3.5.1. Kazuistika 1	29
3.5.2. Kazuistika 2	30
3.5.3. Úmrtnost	30

3.6.	Výskyt onemocnění v ČR.....	31
3.6.1.	Kazuistika 3	32
4.	Léčba a prevence	34
4.1.	Antifungální léčba.....	34
4.1.1.	Azoly.....	34
4.1.2.	Polyeny	35
4.1.3.	Echinokandiny	37
4.1.4.	Rezistence na léčiva.....	38
4.1.4.1.	Azolová rezistence.....	38
4.1.4.2.	Rezistence na polyeny	39
4.1.4.3.	Rezistence na echinokandiny.....	39
4.2.	Chirurgická léčba.....	39
4.3.	Imunoterapie	40
4.4.	Prevence.....	40
	ZÁVĚR	43
	POUŽITÁ LITERATURA	44

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 – <i>Aspergillus</i> (Kubátová, 2006)	13
Obrázek 2 – Média MEA a Flamingo (inkubace 3 dny, při 48 °C) červená šipka ukazuje na kolonie <i>A. fumigatus</i> , modrá šipka ukazuje na kolonie <i>Mucorales</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2021)	14
Obrázek 3 – <i>A. fumigatus</i> pod mikroskopem (Kubátová, 2006)	14
Obrázek 4 – <i>A. flavus</i> pod mikroskopem (Kubátová, 2006).....	15
Obrázek 5 – <i>A. terreus</i> (Kubátová, 2006).....	16
Obrázek 6 - <i>A. niger</i> (Kubátová, 2006)	17
Obrázek 7 – CT hrudníku při invazivní plicní aspergilóze. (a) CT hrudníku ukazující 3 uzlíky (žluté šipky). halo, (b) CT hrudníku ukazující znak srpku vzduchu v parenchymálním okénku (zelená šipka), Centrální nekróza v konsolidované zóně (Desoubaux <i>et al.</i> , 2014)	28
Obrázek 8 - Ložisko s průměrem 46,14 mm, 17.5. 2012 (Godava <i>et al.</i> , 2016)	33
Obrázek 9 – Ložisko s průměrem 68,24 mm, 8.6. 2012 (Godava <i>et al.</i> , 2016).....	33
Tabulka 1 – Přehled počtu zemřelých na aspergilózu v letech 2011-2021 (upraveno dle Českého statistického úřadu, 2021)	31

SEZNAM ZKRATEK

AFPA	<i>Aspergillus flavus</i> a <i>Aspergillus parasiticus</i> agar
AmB	Amfotericin B
BAL	Bronchoalveolární laváž
CLL	Chronická lymfoidní leukémie
CNS	Centrální nervová soustava
CT	Počítačová tomografie
CYA	Čapkův agar s kvasničným extraktem
CZ	Čapkův agar
DAmB	Deoxycholát amfotericin B
GKCH	Glukosový agar s kvasničným extraktem a chloramfenikolem
CHOPN	Chronická obstrukční plicní nemoc
i. v.	Intravenózní
IA	Invazivní aspergilóza
IAPA	Invazivní aspergilóza asociovaná s chřipkou
IPA	Invazivní plicní aspergilóza
LAmB	Lipozomální amfotericin B
MEA	Agar se sladovým extraktem
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
NET	Neutrofilní extracelulární past
PCR	Polymerázová řetězová reakce
qPCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce
rIFN- γ	Rekombinantní interferon-gama
RTG	Rentgen
RT-PCR	Reverzní transkriptázová polymerázová řetězová reakce
SAB	Sabouradův agar
spp.	druhy (species)
TBLB	Transbronchiální plicní biopsie
YES	Agar s kvasničným extraktem a sacharózou

ÚVOD

Invazivní aspergilóza je závažné a často život ohrožující onemocnění způsobené houbami rodu *Aspergillus*, které jsou běžně přítomné v prostředí, zejména v půdě, prachu a rozkládající se organické hmotě. Spory *Aspergillus* jsou pravidelně vdechovány a u zdravých jedinců jsou efektivně eliminovány imunitním systémem. Nicméně, u osob s oslabenou imunitou může *Aspergillus* způsobit závažné infekce, které pronikají do plic a dalších orgánů.

Invazivní aspergilóza se vyskytuje zejména u pacientů s těžkou neutropenií, hematologickými malignitami, po transplantaci orgánů nebo kostní dřeně a u těch, kteří jsou léčeni imunosupresivními léky. U těchto pacientů je schopnost organismu bojovat proti infekci výrazně snížena, což umožňuje houbám *Aspergillus* napadat tkáně a způsobit léze, které mohou vést až ke smrti pacienta.

Vzhledem k rostoucímu počtu pacientů s oslabenou imunitou, například v důsledku pokročilých lékařských terapií a transplantací, je problematika invazivní aspergilózy stále aktuálnější. Výzkum zaměřený na lepší porozumění patogenezi, diagnostice a léčbě této infekce je klíčový pro zlepšení klinických výsledků a snížení letality spojené s invazivní aspergilózou.

Tato bakalářská práce si klade za cíl přispět k tomuto tématu a poskytnout přehled o současných znalostech a pokrocích v oblasti invazivní aspergilózy.

1. Historie

První zmínky o objevení rodu *Aspergillus* pocházejí z roku 1729 od italského kněze a biologa Pier Antonio Micheli. Popsal houbu, která připomínala tvar kropáče, anglicky aspergillum, odtud název *Aspergillus*. Od roku 1850 si tento rod získal větší pozornost, neboť se jedná o patogenní houby pro lidi i zvířata, zároveň produkuje prospěšné či škodlivé metabolity (Arastehfar *et al.*, 2021).

Počátkem 20. století byla aspergilóza uznána jako plicní nemoc drůbeže, skotu a lidí, u kterých se jednalo o nemoc z povolání. Veterináři zjistili, že za nemoc může kontaminované obilí a současně tvrdili, že nezbytnými podmínkami pro způsobení onemocnění je i celkový špatný zdravotní stav zvířat nebo život v nehygienických podmínkách. U lidí byla nemoc zjištěna především u těch, kteří pracovali s ptáky a dobytkem nebo manipulovali s obilím či pracovali v prašných podmínkách. Primárním projevem bylo plicní onemocnění, občas bylo také hlášeno postižení rohovky oka a středního ucha. Zprávy o této nemoci pocházejí také z Paříže od mužů „les gaveurs de pigeons“, kteří krmili holuby. Ve svých ústech museli smíchat obilí a vodu, rozžvýkat tuto směs na kaši a pak ji plivat do jícnu ptáků. Tato práce byla prováděna ve velkém měřítku, kdy každý muž údajně krmil 2000 ptáků denně (Homei and Worboys, 2013).

Taxonomie hub byla založena na makroskopických (např. konidiální zbarvení, rychlost růstu) a mikroskopických znacích (tvar váčků, přítomnost či nepřítomnost metuly). Tyto monografie byly standardem až do zavedení molekulárně biologických technik v 90. letech 20. století. Díky analýze sekvence DNA se ukázalo, že morfologicky dobře definované druhy se skládají z více druhů. V současné době je standardem pro popis nových druhů nejen rodu *Aspergillus* polyfázický přístup, který sjednocuje různé druhy dat a informací (fenotypové, genotypové a fylogenetické) (Arastehfar *et al.*, 2021).

2. Rod *Aspergillus*

Aspergillus je všudypřítomný organismus patřící do říše Fungi, třídy *Euromycetes* rodu vřeckovýtrusných hub z řádu *Eurotiales*. Nachází se v půdě, v prachu, v potravinách, ve vodě i ve vzduchu.

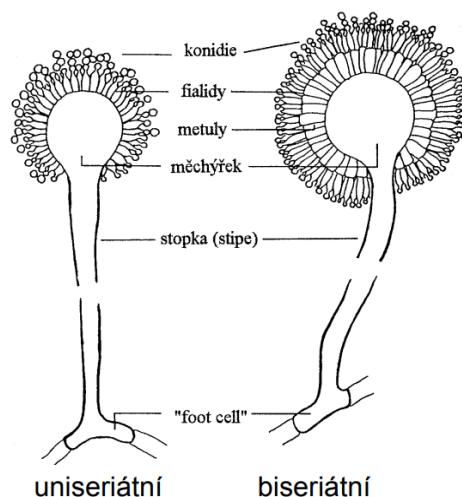
Jsou to vláknité houby, jejich rozvětvená vlákna – hyfy tvoří mycelium s konidiofory, které jsou zakončeny kulovitými měchýřky. Na koncích se nachází řetízkovitá uspořádání plísňových spor – konidií, které kromě nepohlavního rozmnožování poskytují také dlouhodobé přežití v nepříznivých klimatických podmínkách. Mezi konidioforem a řetízkem konidií se ještě nachází jedna vrstva fialid, pokud se jedná o uniseriátní typ anebo jsou přítomny vrstvy dvě, a to jedna vrstva fialid a druhá vrstva metul (obr. 1) (Kubátová, 2006).

Produkce konidioforů je přísně řízena různými regulátory genů, jako je centrální regulační kaskáda (skládá se z *BrlA-AbaA-WetA* regulátorů, které zajišťují včasnou aktivaci a expresi velkého množství genů během tvorby konidií), specifickými regulátory (koordinující růst a vývoj) a vývojových represorů (faktory blokující transkripci) (Cho *et al.*, 2022; Jia *et al.*, 2021).

Mezi kultivační půdy pro identifikaci zástupců rodu *Aspergillus* patří především Čapkův agar (CZ), Čapkův agar s kvasničním extraktem (CYA), agar se sladovým extraktem (MEA), glukosový agar s kvasničním extraktem a chloramfenikolem (GKCH), Sabouradův agar (SAB) popř. agar s kvasničním extraktem a sacharózou (YES).

V současné době bylo popsáno 150 druhů *Aspergillus*, Jannssens *et al.* (2024) uvádí až 250, ale pouze několik z nich je schopno způsobit lidská onemocnění. Nejčastějšími patogenními druhy jsou *Aspergillus fumigatus*, následovaný *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* a *Aspergillus niger* (Fosses Vuong *et al.*, 2023; Jannssens *et al.*, 2024).

Aspergillus má schopnost produkovat různé sekundární metabolity – mykotoxiny, které jsou pro lidi toxické i při nanomolárních koncentracích (Navale *et al.*, 2021).



Obrázek 1 – *Aspergillus* (Kubátová, 2006)

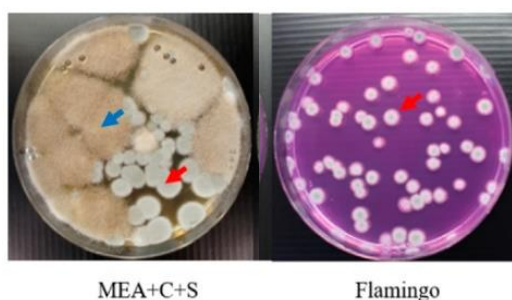
2.1. *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus (*A. fumigatus*) je hlavním druhem způsobující invazivní aspergilózu a udává se, že může za 60 % až 90 % případů (Bandres *et al.*, 2023; Fosses Vuong *et al.*, 2023).

Na médiích (CZ, CYA, MEA, SAB, GKCH) tvoří kolonie připomínající samet a díky konidiím zbarveným do zelena, je kolonie na povrchu zelená. Jedná se o rychle rostoucí houbu při 25 i 37 °C, ale je schopna růst i při 55 °C (Kubátová, 2006). Pro příležitostné případy v klinické mykologii, kdy jsou u pacientů s invazivními plísňovými onemocněními pozorovány koinfekce *Aspergillus* a *Mucorales*, může být použito Flamingo medium. Jednou z hlavních složek média je bengálská červeň, která inhibuje růst rodu *Mucorales*, ale i růst bakterií a jiných plísní (obr. 2). Snížení růstu druhů *Mucorales* bylo v průměru o 95 % účinnější na Flamingo medium než na MEA (Zhang *et al.*, 2021).

A. fumigatus tvoří uniseriální typ konidiofor pouze s řadou fialid, které sporulují z horních dvou třetin měchýřku (obr. 3). Konidiofory mají hladkou nazelenalou stopkou (především v horní části) a široce kyjovitý měchýřek. Konidie jsou kulovitého tvaru a jsou zelené (Fosses Vuong *et al.*, 2023; Kubátová 2006).

A. fumigatus je spojovaný s respiračními symptomy, zejména kvůli malé velikosti konidií a dalším faktorům virulence, jako je produkce gliotoxinu. Vzhledem k termotoleranci může kontaminovat samozahřívající se hromady kompostu (National Toxicology Program 2021; Viegas *et al.*, 2021).



Obrázek 2 – Média MEA a Flamingo (inkubace 3 dny, při 48 °C) červená šipka ukazuje na kolonie *A. fumigatus*, modrá šipka ukazuje na kolonie Mucorales (Zhang *et al.*, 2021)



Obrázek 3 – *A. fumigatus* pod mikroskopem (Kubátová, 2006)

2.2. *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus (*A. flavus*) je po *A. fumigatus* druhý nejčastější původce invazivní aspergilózy. Díky svým schopnostem přežít v horkých a suchých podmínkách je původcem širokého spektra onemocnění převážně v Asii, Africe a na Středním východě (Cho *et al.*, 2022).

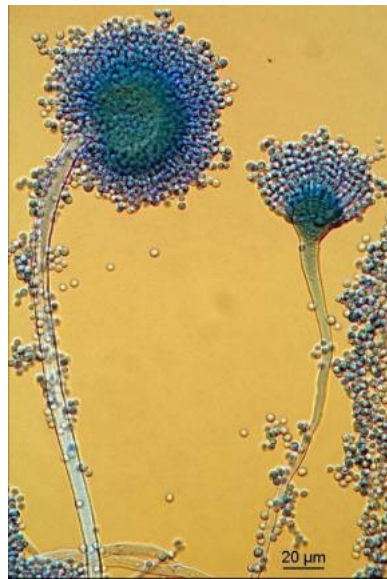
Tento druh má žlutozelené konidie, na médiích tvoří (CZ, CYA, MEA, SAB, GKCH a YES) kolonie vypadající jako mech, které jsou na povrchu žlutozelené. Je to houba rychle rostoucí při 25 °C, ale roste i při teplotě až 48 °C. Často se tvoří tzv. sklerocia, což jsou tvrdé sterilní útvary tvořené myceliem, která jsou schopna přežít nepříznivé podmínky. Zpočátku bývají nahnědlá a později mohou být až černá (Kubátová, 2006). Detekce těchto druhů z potravin nebo půdy se provádí také kultivací na *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* agaru (AFPA), (ABD-Elsalam *et al.*, 2020). Po 42–48 hodinách inkubace při 30 °C rostou kolonie *A. flavus* a *A. parasiticus* s brilantním oranžovo-žlutým reverzním zbarvením (Motarjemi *et al.*, 2014). Kultivaci lze provést i na již dříve zmíněném Flamingo mediu při 37 °C (Zhang *et al.*, 2021).

Tvoří se biseriátní i uniseriátní konidiofory s bradavčitou stopkou a kulovitým nebo téměř kulovitým měchýřkem. Konidie jsou také kulovité nebo téměř kulovité a hrubě bradavčité (obr. 4).

Velmi často se vyskytuje v teplých oblastech, jak v půdě, tak na dovozových potravinách. Proto je často detekován v potravinách dovážených ze zahraničí, jako např. arašidy, kukuřice, obiloviny apod. (Mahato *et al.*, 2019).

Konidie obsahují řadu sekundárních metabolitů – aflatoxinů. To vede k velkým škodám na plodinách a následně k ekonomickým ztrátám (Cho *et al.*, 2022). Dle Abd-Elsalam *et al.* (2020)

bylo prokázáno, že 62 % izolovaných kultur *A. flavus* produkuje aflatoxiny, Motarjemi *et al.* (2014) specifikuje, že se jedná nejčastěji o aflatoxiny typu B.



Obrázek 4 – *A. flavus* pod mikroskopem
(Kubátová, 2006)

2.3. *Aspergillus terreus*

Aspergillus terreus (*A. terreus*) jakožto další zástupce způsobující invazivní aspergilózu, je celosvětově rozšířen a nachází se v různých prostředích, jako je půda, kompost, prach ale hlavně se vyskytuje na potravinách, a to zejména v rostlinných produktech, jako je skladovaná kukuřice, rýže, arašídů a ječmen. Není klasifikován jako běžný kontaminant způsobující kažení (Lass-Flörl *et al.*, 2021).

Je to poměrně rychle rostoucí houba a optimální teplota pro inkubaci je 37 °C. *A. terreus* roste na CYA i MEA v sametových koloniích, které jsou díky okrově zbarveným konidiím na povrchu zbarveny žlutě, stejně tak na CZ nebo SAB agaru, kde jsou povrchy kolonií zbarvené od béžové přes žlutohnědou až po skořicovou a často jsou v médiu přítomny žluté rozpustné pigmenty (Kubátová 2006; Lass-Flörl *et al.* 2021). Tato houba tvoří biseriátní hladké konidiofory s téměř kulovitým měchýřkem (obr. 5). Konidie jsou malé, hladké a mají kulovitý, někdy až elipsoidní tvar (Kubátová, 2006). Na rozdíl od jiných druhů *Aspergillus* produkuje *A. terreus* akcesorické konidie – nazývané také aleuriokonidie, které jsou tvořeny přímo z vegetativních hyf a na svém povrchu obsahují velké množství imunogenních β -glukanů, hrající potenciální roli v patogenezi a diseminaci (Lass-Flörl *et al.*, 2021).



Obrázek 5 – *A. terreus*
(Kubátová, 2006)

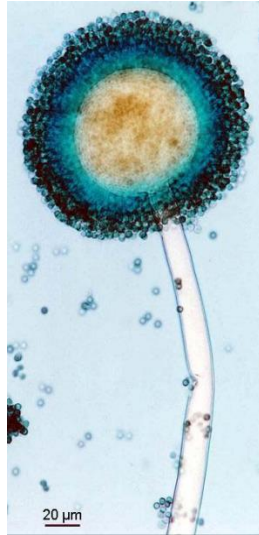
2.4. *Aspergillus niger*

Aspergillus niger (*A. niger*) je rychle rostoucí houba vytvářející na médiu (CZ, CYA, MEA, SAB a GKCH) zrnité kolonie, svrchu zbarvené do černa, díky černě zbarveným konidiím, často produkuje i žlutý pigment do agaru (Kubátová, 2006). Izolace *A. niger* by šla provést i na již dříve zmíněném Flamingo mediu, ale pouze při teplotě 30 °C (Zhang *et al.*, 2021).

Tento druh má biseriální typ konidiofor s hladkou stopkou a kulovitým měchýřkem. Konidie jsou černé a mají kulovitý nebo téměř kulovitý nepravidelný tvar (obr. 6) (Kubátová, 2006).

Vyskytuje se celosvětově, hlavně však v teplejších oblastech. *A. niger* může být hlavní příčinou hniloby manga, hroznového vína nebo rajčat či cibule (Martínez *et al.*, 2021).

A. niger produkuje různé druhy mykotoxinů, jako jsou aflatoxin M₂, ochratoxin B, citrinin a gliotoxin (Navale *et al.*, 2021). *A. niger* je důležitá a průmyslově používaná houba pro produkci organických kyselin, proteinů, enzymů a sekundárních metabolitů. Během procesu mikrobiální fermentace je *A. niger* jedním z převládajících mikrobů v tmavém čaji, které přispívají k vytvoření jedinečné kvality tmavého (fermentovaného) čaje (Li *et al.*, 2022).



Obrázek 6 - *A. niger*
(Kubátová, 2006)

3. Invazivní aspergilóza

Aspergilóza je infekční mykotické onemocnění způsobené některými zástupci rodu *Aspergillus*, které nejčastěji postihuje jedince s oslabeným imunitním systémem. Napadá především plíce, centrální nervovou soustavu (CNS), srdce a kůži. Pokud jsou obranné mechanismy těla oslabené (např. porucha fagocytózy, narušení bakteriální rovnováhy způsobené užíváním antibiotik nebo zvýšená hladina cukru v krvi), riziko vzniku této infekce se zvyšuje.

Existuje několik hlášených případů přítomnosti invazivní aspergilózy (IA) v pooperační ráně u imunokompetentních pacientů. Vzhledem k faktu, že se jedná o všudypřítomnou houbu zdroj infekce může být různorodý, zahrnující nemocniční ventilace, skladování obvazových materiálů a další (Alquraish, 2023; Fosses Vuong *et al.*, 2023).

3.1. Mechanismus účinku

Ve svém přirozeném prostředí se *Aspergillus* chová jako saprofyt, který přežívá za různých nepříznivých podmínek. V experimentálních modelech infekce rodu *Aspergillus* jsou běžně pozorována místa hypoxie v plicích, což potvrzuje schopnost přežít v podmínkách s nízkým obsahem kyslíku. Buněčná stěna je unikátním faktorem virulence, protože jednak chrání *Aspergillus* před vnějšími vlivy, a zároveň ovlivňuje a moduluje imunitní odpověď hostitele. Mezi hlavní vlastnosti virulence patří plasticita, která se uplatňuje při získávání živin a růstu zástupců rodu *Aspergillus*. Díky svým strukturálním vlastnostem, růstovému stádiu a podmínkách prostředí je buněčná stěna hub rodu *Aspergillus* hlavním zdrojem houbových ligandů, které aktivují imunitní systém.

Primární obranou proti vdechnutí konidií rodu *Aspergillus* je respirační epitel dýchacích cest. Za určitých podmínek konidie unikají z respiračního epitelu a jsou napadány buňkami vrozeného imunitního systému, včetně rezidentních alveolárních makrofágů a dendritických buněk. Pučící konidie, které unikají makrofágům, jsou eliminovány neutrofily a monocyty. Další ochranou imunitního systému je tzv. neutrofilní extracelulární past (NET), která přispívá k vrozené obraně hostitele *in vivo* a neutrofily vykonávají značné množství antifungálních funkcí, které zahrnují rozpoznávání, fagocytózu, intracelulární odstranění škodlivých či nepotřebných látek z vnitřního prostředí zprostředkované oxidativními i neoxidativními mechanismy a sekreci antimikrobiálních molekul. Při nedostatečné inhibici klíčení konidií, dochází k růstu hyf a následně k invazi tkání a iniciaci onemocnění. Buňky vrozené imunity exprimují receptory, které rozpoznávají molekulární vzory související

s patogenními organismy a aktivují efektorové funkce, včetně fagocytózy, produkce prozánětlivých cytokinů a chemokinů, které řídí vrozenou a adaptivní imunitní odpověď.

Neutrofil chemotaktický faktor známý jako IL-8, je produkován makrofágy a epiteliálními buňkami jako důležitý chemoatraktant pro neutrofile, a to i během časné fáze IA, kdy jsou konidie usmrceny lokálními alveolárními makrofágy. Je možné ho využít jako biomarker pro invazivní aspergilózu (Arastehfar *et al.*, 2021).

3.2. Příznaky a rizikové pacienti

Specifické příznaky jsou podrobněji popsány u jednotlivých forem invazivní aspergilózy (kapitola 4.3.).

Systémové příznaky, včetně horečky, nočního pocení a úbytku hmotnosti, jsou častěji pozorovány u fibrotizujících a nekrotizujících forem onemocnění. Naproti tomu pacienti s malými aspergilomy nebo uzly mohou být bez příznaků a fyziologická vyšetření mají v normě. Výsledky vyšetření se liší v závislosti na infikované oblasti (Fosses Vuong *et al.*, 2023).

Invazivní aspergilóza postihuje především imunokompromitované pacienty patřící do populace mající neutropenii, AIDS, užívajících steroidy, léčících se vysokými dávkami cytarabinu, těch po transplantaci hematopoetických kmenových buněk, mající hematologické malignity nebo nacházející se na jednotce intenzivní péče s dýchacím onemocněním (Combariza *et al.*, 2017; Fosses Vuong *et al.*, 2023).

Osoby pracující ve stavebnictví, zemědělském průmyslu a čistírnách odpadních vod mohou být vystaveny zvýšenému riziku infekce patogenními druhy rodu *Aspergillus* kvůli chronické expozici v jejich pracovním prostředí. Kouření kontaminované marihuany může také vystavit jednotlivce riziku infekce (Fosses Vuong *et al.*, 2023).

Stavební činnosti v okolí zdravotnických zařízení mohou způsobit vážnou kontaminaci prachem a rozptýlit velké množství konidií (Combariza *et al.*, 2017).

3.3. Formy invazivní aspergilózy

3.3.1. Invazivní plicní aspergilóza

Invazivní plicní aspergilóza (IPA) je onemocnění plic nejčastěji způsobené druhem *A. fumigatus*. K nákaze obvykle dochází inhalací konidií z prostředí. Prvními a hlavními klinickými příznaky, které se objevují jsou kašel (92 % případů), respirační tíseň a dušnost s hypoxií. Může být také přítomna horečka rezistentní na antibiotika po dobu delší než

72 hodin, která může být ovlivněna současným užíváním kortikosteroidů. Tyto příznaky jsou však nespecifické. Angioinvasivní růst hyf z počátečního endobronchiálního ložiska způsobuje krvácení, trombózu a nekrózu tkáně. V invazivní fázi se vyskytuje bolest na hrudi (76 %) a stejně tak hemoptýza (54 %), která může být závažná v případě arteriální perforace. *A. fumigatus* se z tohoto plicního ložiska dále šíří krevním řečištěm do dalších orgánů. Pokud dojde k invazi do nervového systému, nastávají velice závažné následky a onemocnění je téměř vždy smrtelné. Celosvětová úmrtnost na IPA zůstává vysoká a pohybuje se od 30 do 50 % v celosvětové populaci.

Invazivní plicní aspergilóza má nejzávažnější prognózu mezi těmito různými klinickými projevy. Toto oportunní mykotické onemocnění se obvykle vyskytuje u imunodeficitních pacientů, kteří jsou např. po alogenní transplantaci krvetvorných buněk, pacienti s nádorovým onemocněním a hematologickým onemocněním nebo ti, kteří jsou léčeni protinádorovou chemoterapií a příjemci transplantovaných orgánů. Incidence IPA se v posledních letech výrazně zvýšila u nových rizikových populací, zejména u jedinců s lymfoproliferativními syndromy a u pacientů hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče, zejména léčených kortikoterapií. Ačkoliv jsou fungicidní látky, jako je vorikonazol nebo posakonazol, dostupné, zůstává celosvětová úmrtnost vyšší než 30 %. Příčiny této vysoké úmrtnosti souvisejí částečně se závažností komorbidit, ale také s obtížemi stanovit přesnou, specifickou diagnózu. Prodleva před stanovením diagnózy má zřejmý vliv na včasné zahájení léčby a následně i na prognózu (Desoubeaux *et al.*, 2014).

3.3.2. Invazivní aspergilóza postihující centrální nervovou soustavu

K postižení CNS invazivní aspergilózou dochází, pokud se rozšíří primární výskyt patogenních druhů rodu *Aspergillus* v nosních a paranazálních dutinách, mastoidní kosti nebo středním uchu u imunokompetentních osob nebo prostřednictvím krevního řečiště v rámci diseminace u imunokompromitovaného pacienta. Většina infekcí CNS u imunokompromitovaných hostitelů je způsobena *A. fumigatus*, zatímco *A. flavus* je převládajícím druhem mezi imunokompetentními jedinci (Miceli, 2019). Nejběžnější formou invazivní aspergilózy CNS je tzv. rhinocerebrální forma, vznikající v oblasti nosu a vedlejších nosních dutin, a to z důvodu časně diagnostiky kvůli snadnému odběru vzorků z vedlejších nosních dutin. Tito pacienti mají nízkou letalitu díky časnému odstranění nekrotické tkáně (debridementu) a rychlé antimykotické léčbě. Tato forma se vyskytuje v rozvojových zemích Asie, Středního východu a Afriky, kde jsou paranazální plísňové infekce častější.

Invazivní aspergilóza postihující CNS, se projevuje také intracerebrální formou. Tato lokalizace způsobuje křeče, mozkové infarkty, intrakraniální krvácení, meningitidu nebo epidurální abscesy. K intracerebrálním abscesům dochází nejčastěji po hematogenní diseminaci u imunokompromitovaných pacientů, avšak zůstává často poddiagnostikována, protože chybí jakákoli typická diagnostická charakteristika a je obtížné odebrat vzorky. Většina pacientů tomuto typu infekce podlehne a diagnostika je určena až *post mortem* (Desoubeaux *et al.*, 2014; Rudramurthy *et al.*, 2019).

3.3.3. Invazivní kardiální aspergilóza

Srdeční aspergilóza je vzácná forma infekce perikardu, myokardu nebo endokardu a je hlášena především po operaci srdce. Je charakterizována tvorbou velkých ložisek v srdeční stěně a vzniku periferních embolií. Hlavní příčinou šíření je transport krevním řečištěm a systémová embolizace vedoucí k rozšíření do téměř všech hlavních orgánových systémů včetně dýchacích cest, gastrointestinálního traktu, centrálního nervového systému a srdce. Ačkoli nevalvulární srdeční aspergilóza má predilekci pro imunokompromitované, byly hlášeny i případy u mladých imunokompetentních pacientů, často s fatálními následky. Většina případů byla hlášena u hematologických pacientů (Navaratnam *et al.*, 2021). Přítomnost *A. flavus* byla prokázána u 11,2 % pacientů po operaci srdce a většina z nich byla spojena s kontaminovanými štěpy, kontaminovanými stehy nebo intraoperačním rozptylem konidií. Infekce se může projevit jako endokarditida, aortitida či postižení perikardu (Rudramurthy *et al.*, 2019).

3.3.4. Invazivní kožní aspergilóza

Další formou IA je kožní aspergilóza, která může vzniknout po narušení kožní bariéry v důsledku chirurgických zákroků nebo popálenin (Alquraish *et al.*, 2023).

Infekce je způsobena především druhem *A. flavus* a obvykle postihuje místo zavedení centrálního žilního katetru nebo je způsobena sekundární infekcí v důsledku hematogenního šíření. Léze se mohou projevovat jako makuly, papuly, buly, noduly, vředy a abscesy. V multicentrické studii z Francie byly všechny případy primární kožní aspergilózy způsobeny *A. flavus*. Infekce rány vzniklé po operaci mohou být spojeny s vysokými koncentracemi vzdušných spor na operačním sále. Rudramurthy *et al.* (2019) také uvádí, že *A. flavus* způsobuje fatální aspergilózu u novorozenců, infekci sternální rány po kardiokirurgických operacích a transplantaci kmenových buněk. Subkutánní aspergilóza je velmi vzácný jev a léze mohou

vzniknout buď traumatem nebo jako projev diseminované aspergilózy. Nejběžnější klinickou formou primární subkutánní aspergilózy je eumycetom charakterizovaný otokem, drenážními dutinami a granulemi. Do roku 2019 bylo hlášeno pět případů eumycetomu způsobeného *A. flavus*, dva ze Súdánu a po jednom z USA, Íránu a jižní Indie (Rudramurthy *et al.*, 2019).

3.4. Diagnostika

Invazivní aspergilózu je často velmi obtížné diagnostikovat, a to z mnoha důvodů. Onemocnění pomocí histologického vyšetření je zřídka kdy prokázáno. U pacientů po transfúzi či transplantaci orgánů může IA probíhat bez typických příznaků, které se u těchto pacientů objevují. Stejně tak u imunokompromitovaných pacientů, u kterých nejsou diagnostikovány klasické radiologické příznaky. Mezi diagnostické techniky založené na nekultivačních metodách patří detekce galaktomananu nebo amplifikace DNA (Bassetti *et al.*, 2020).

Histopatologické a kultivační metody mají nízkou senzitivitu, a proto jsou potřeba nové prostředky pro detekci zástupců rodu *Aspergillus*. Pro zlepšení diagnostiky byly vyvinuty laboratorní testy pro detekci antigenů galaktomananu pro rychlou diagnostiku. Galaktomanan je hlavní složkou buněčné stěny rodu *Aspergillus* a je detekován v séru, ve vzorcích bronchoalveolární laváže (BAL) či v moči. Molekulárně biologické metody pro detekci specifické sekvence nukleových kyselin zástupců rodu *Aspergillus* ze vzorků BAL, séra a krve, poskytují v poslední době alternativní a potenciálně citlivější prostředek pro diagnostiku IA. Metody polymerázové řetězcové reakce (PCR) jsou zejména díky své jednoduchosti, specifitě a senzitivě běžně používané (Hedhili *et al.*, 2017).

Kultivace zůstává důležitým diagnostickým kritériem u kriticky nemocných pacientů, i když není standardizována, zůstává klíčovým prvkem pro diagnostiku IA a má tu výhodu, že snadno odhalí i jiné plísně než *A. fumigatus* (Alanio and Bretagne, 2017).

3.4.1. Odběr materiálu

Odběr postižené tkáně se provádí invazivními technikami, mezi které patří biopsie, endoskopie nebo se odběr také může provést během operace. V případě, že tato možnost není, materiál je odebrán z postižené lokality, např. pomocí BAL při postižení plic, výplachu z dutin, získání mozkomíšního moku při ložiskovém postižení CNS a podobně. Při získání malého množství materiálu nebo hrozí-li jeho vyschnutí, je vhodné odebírat materiál přímo do tekutého kultivačního media nebo sterilního fyziologického roztoku. Lékař předkládající vzorek musí poskytnout přesné informace o lokalitě, odkud je materiál odebírán a také správnou

diagnózu pacienta. Jsou to rozhodující kritéria, podle kterých mykolog posuzuje závažnost nálezu. Častou kontaminací materiálu (během odběru či následnou manipulací v laboratořích) způsobují mikromycety, jelikož jsou běžnou součástí životního prostředí, ale i mikroflóry člověka.

Za ideální biologický materiál se považují vzorky odebrané přímo z podezřelého ložiska a za vhodných podmínek jsou i transportovány a uchovány. Protože invazivní aspergilóza nejvíce postihuje imunosuprimované pacienty, vhodný biotický materiál není ve většině případů k dispozici, neboť rizika odběru převažují nad možným přínosem. O provedení invazivního odběru materiálu rozhoduje klinický lékař a u každého pacienta musí být individuální, avšak u pacienta s podezřením na fokální infekci způsobenou IA by měla být některá z vyšetřovacích metod k získání reprezentativního vzorku alespoň zvažena (Bartáková *et al.*, 2007).

3.4.1.1. Biopsie

Existuje několik typů biopsií plic podle různých specifikací. Nejčastěji používaná je plicní biopsie vedená pomocí počítačové tomografie (CT), dále se využívá také transbronchiální plicní biopsie (TBLB), která se liší tím, že je vedena bronchoskopem (Bandres *et al.*, 2023).

Diagnostická výtěžnost plicní biopsie vedené pomocí CT je vyšší než u TBLB, avšak míra komplikací u pacientů podstupujících biopsii řízenou CT je vyšší než u pacientů podstupujících TBLB.

Biopsie se provádí v lokální anestezii, v poloze vleže na břicho nebo na boku, což umožňuje bezpečné napíchnutí plíce jehlou v místě nejkratšího možného přístupu (Nakamura *et al.*, 2021).

3.4.1.2. Bronchoalveolární laváž

K získání materiálu se provádí bronchoalveolární laváž, kdy je bronchoskop zaveden do postižené oblasti a po zavedení do bronchů je aplikováno několik dávek sterilního fyziologického roztoku (standardně 4krát 50 ml), který je následně částečně odsán zpět a odeslán k vyšetření. Takto získaný materiál ukazuje složení bronchiálního sekretu v místě odběru. BAL lze provést při plném vědomí s lokální anestézií v oblasti hrtanu, popřípadě za pomoci mírné sedace. Další metodou může být bronchoskopická punkce, kterou lze doplnit prováděné bronchoskopické vyšetření, avšak diagnostický výtěžek u imunokompromitovaných pacientů nebývá významný a přináší další riziko komplikací (Bartáková *et al.*, 2007).

3.4.1.3. Odběr mozkomíšního moku

Odběr mozkomíšního moku slouží především k průkazu nálezu maligních elementů a jiných infekčních agens, protože přímý záchyt hyf je velmi nepravděpodobný. Pro diagnostiku IA se provádí vyšetření galaktomananu a PCR mozkomíšního moku (Bartáková *et al.*, 2007).

Samotná lumbální punkce, se provádí za přísně sterilních podmínek, nejčastěji s použitím atraumatické jehly (tenká dutá jehla). Jedná se o výkon trvající 5-10 minut, který nevyžaduje lokální anestezii, pacient je v poloze vsedě popřípadě v leže na boku (Jane and Wray, 2023).

Pro mikrobiologické vyšetření se odebírá 20 kapek, zatímco pro cytologické vyšetření je potřeba 50 kapek (Doherty and Forbes, 2014).

3.4.2. Průkaz galaktomananu

Galaktomanany jsou polysacharidové složky buněčné stěny rodu *Aspergillus*, které lze detekovat v séru nebo tekutině z BAL. V metaanalýze 50 studií byla senzitivita sérového galaktomananu pro zástupce rodu *Aspergillus* odhadnuta na 82 %. Test poskytuje přesnější výsledky u pacientů s hematologickými malignitami a u příjemců krvetvorných buněk, ale má významně nižší senzitivitu u neutropenických jedinců (Friedman *et al.*, 2024). Antigen galaktomananu může být detekován při prahu 0,5 ng/ml 48 hodin před klinickými příznaky (u 65,2 % pacientů) nebo před radiologickými příznaky (u 71,5 % pacientů) a před výsledky mykologických kultur (100 % případů). Současná doporučení navrhuji screening galaktomananového antigenu dvakrát týdně u pacientů s vysokým rizikem IPA (Desoubeaux *et al.*, 2014). Hedhili *et al.* (2017) uvádí, že detekce cirkulujícího galaktomananu postrádá senzitivitu a do jisté míry i specifitu, takže diagnóza může být oddálena, což potvrzují výsledky studie od Friedman *et al.* (2024), že sériová detekce galaktomananu z BAL není spolehlivým markerem v predikci léčebné odpovědi.

Sledování galaktomananu ve vzorcích z respiračního systému je mnohem citlivější než sledování galaktomananu v séru, jak ukazuje Dimopoulos *et al.* (2021), kde byli testováni pacienti postižení IPA, pozitivní výsledek galaktomananu v séru byl rozpoznán u 37/144 pacientů, tedy 25,7 % a ve vzorcích odebraných z dýchacích cest u 100/129 pacientů, tedy 77,5 %.

3.4.3. Polymerázová řetězová reakce

PCR je využíváno k amplifikaci specifického úseku DNA, dle kterého se následně identifikuje houbový patogen. Gen, který se detekuje pomocí PCR je nejčastěji podjednotka

18S rRNA. Pro studium fylogeneze, diverzity, dynamiky a složení vláknitých hub může sekvenování tohoto genu poskytnout komplexní informace o struktuře a diverzitě ve skupinách příbuzných druhů (Amutha a Godavari, 2014). Je používána všemi specializacemi v medicíně se stále větší frekvencí a významem (Mahanama and Wilson-Davies, 2021).

Jednou z hlavních předností detekce specifické DNA *Aspergillus* pomocí PCR z krevních vzorků je její vysoká citlivost. Systematický přehled publikovaný Cruciani *et al.* (2019) zdůraznil průměrnou citlivost (79,2 %) a specifitu (79,6 %) pro jeden pozitivní výsledek testu a citlivost (59,6 %) a specifitu (95,1 %) pro dva po sobě jdoucí pozitivní výsledky při provádění PCR na vzorcích krve (Egger *et al.*, 2020).

Další výhodou je, že DNA rodu *Aspergillus* je v krevním řečišti detekovatelná dříve než galaktomanan, a proto pozitivita PCR ukazuje na přítomnost *Aspergillus* dříve, než jiné biomarkery nebo než se objeví klinické příznaky. Pokud je PCR kombinováno s jinými diagnostickými testy, jako je detekce galaktomananu, dochází ke zvýšení specifity, což umožní dřívější zahájení léčby (Egger *et al.*, 2020).

Reverzní transkriptázová polymerázová řetězová reakce (RT-PCR) se využívá pro detekci RNA, která je ale před detekcí převedena na komplementární DNA pomocí reverzní transkripce (Mahanama and Wilson-Davies, 2021).

Autoři francouzské prospektivní studie, zahrnující skupinu 124 dospělých onkologicko-hematologických pacientů uvedli, že systematický týdenní screening sérové DNA *A. fumigatus* pomocí real-time PCR (qPCR) umožnil včasnou diagnózu IA u těchto pacientů. V této studii byla senzitivita a specifita screeningu DNA *A. fumigatus* pro diagnostiku IA pomocí qPCR, 100 % resp. 96,7 % při odebraném objemu 1 ml séra.

Autoři podobné metaanalýzy zaměřené na vzorky bronchoalveolární laváže uváděli senzitivitu a specifitu 91 % a 92 %. Hlavní nevýhodou této metody však byla její nedostatečná standardizace, což omezovalo její použití jako diagnostický nástroj pro IA. Autoři dospěli k závěru, že senzitivita a specifita testu byly vysoké (80 %, resp. 81 %) (Frange *et al.*, 2015).

3.4.4. Kultivace

Mezi kultivační půdy pro identifikaci zástupců rodu *Aspergillus* patří především Čapkův agar (CZ), Čapkův agar s kvasničním extraktem (CYA), agar se sladovým extraktem (MEA), glukózový agar s kvasničním extraktem a chloramfenikolem (GKCH) a Sabouradův agar (SAB) popř. agar s kvasničním extraktem a sacharózou (YES) (Kubátová, 2006). Vzorky se mohou kultivovat s přidavkem antibiotik (chloramfenikol, gentamicin) k potlačení růstu

bakterií, při teplotě 35 °C až 37 °C. Kmeny rodu *Aspergillus* tvoří kolonie za 2–7 dní, pokud je pacient léčen antimykotiky i později (Mallátová, 2017). Kultivace se ukončuje obvykle po 10 až 14 dnech, ale předběžné výsledky jsou odesílány dříve. Identifikace druhu se provádí na základě charakteristických makroskopických a mikroskopických znaků a může být poměrně náročná odborně i časově (Bartáková *et al.*, 2007).

Kultivační vyšetření má v případě pozitivního nálezu vysokou specifitu (až 92%), avšak má nízkou senzitivitu (< 50%) v porovnání s jinými metodami (Mallátová, 2017).

Mezi druhy jsou často jen malé rozdíly a někdy je třeba je kultivovat na speciálním agarovém médiu, aby byly tyto rozdíly pozorovány. Identifikace na základě fenotypových znaků je proto náročná i pro zkušené mykology. Tyto fenotypově podobné druhy se také dají identifikovat např. odlišnou antimykotickou citlivostí vůči triazolu a amfotericinu B (Arastehfar *et al.*, 2021).

Pokud se jedná o primární patogenní mikroorganismus, jeho průkazem je fakticky stanovena diagnóza. Komplikovanější situace nastává při izolaci oportunních patogenních mikroorganismů rodu *Aspergillus*. Pokud se jedná o vyšetření sputa či sekretu dolních cest dýchacích, musí být nález interpretován s velkou opatrností. Důležité je znát i klinický stav pacienta, vyšetření se může v případě potřeby opakovat vícekrát a je vhodné ho doplnit nebo ověřit dalšími vyšetřovacími postupy (průkaz galaktomananu, PCR, CT). V těchto případech může být nápomocný právě mikroskopický nález. Velmi důležité je také dbát na možnou kontaminaci všudypřítomných aspergilových mikrokonidií, jednak při odběru materiálu, ale hlavně při práci v laboratoři, především v té mykologické. Ke stanovení správné diagnózy je neméně důležitá komunikace mezi klinikem a laboratorním specialistou (Bartáková *et al.*, 2007).

3.4.5. Mikroskopie

Nenahraditelnou metodou v laboratorní diagnostice mykóz je mikroskopické vyšetření. Mikroskopické pozorování kultury se provádí v kapce laktofenolové modři na podložním sklíčku. Laktofenolová modř impregnuje struktury hub, což usnadňuje přímé pozorování nativního preparátu pod mikroskopem. Vzhledem k velké makroskopické i mikroskopické podobnosti druhů, je identifikace vyžadována od zkušeného odborníka (Desoubeaux *et al.*, 2014).

Mikroskopování vzorků je většinou snadné na provedení i časově nenáročné. Většinou se používají běžná barviva (Gram, Giemsa), která potvrzují mykotickou etiologii i skupinovou

diagnózu. Pro aspergilózu jsou typickým nálezem široké septované hyfy s větvením do tvaru písmene „V“. Pokud jsou přítomna mukormyceta, jejich vlákna jsou neseptovaná a odstupují pod úhlem více než 45°. Mezi další ukazatele patří přítomnost charakteristických bakteriálních flór, epitelie a leukocyty, které značí kvalitu odběru, přítomnost zánětu a význam mykotického nálezu ve vyšetřovaném vzorku. Někdy je použita fluorescenční mikroskopie, kdy jsou stěny houbových elementů obarvené fluorescenčním barvivem (např. rylux) a září v dopadajícím světle fluorescenčního mikroskopu (Bartáková *et al.*, 2007).

3.4.6. Neinvazivní techniky

3.4.6.1. Počítačová tomografie

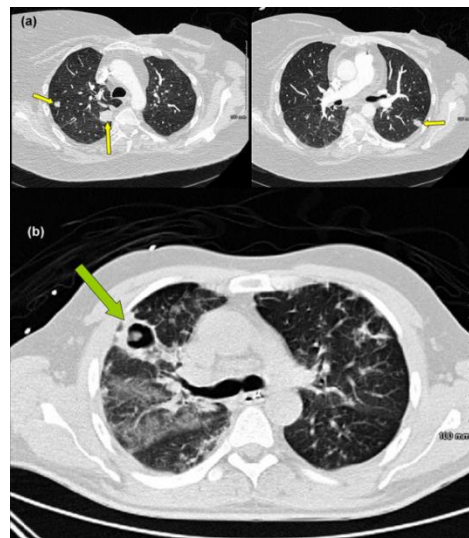
Jednou z hlavních technik pro diagnostiku invazivní aspergilózy je počítačová tomografie. Je to radiologická zobrazovací metoda, která je citlivější a specifitější než standardní rentgenové vyšetření, především na počátku onemocnění. Funguje na principu, kdy se série paprsků točí kolem určené části těla a následně jsou vytvářeny počítačem generované řezy. Výhodou těchto tomografických snímků oproti běžnému rentgenu je, že obsahují detailní informace o určité oblasti v příčném řezu. Tím se eliminuje překrývání snímků, což poskytuje obrovskou výhodu oproti obyčejným snímkům z rentgenu. Výsledkem je tak dvourozměrný informativní snímek. Vyšetření poskytuje vynikající klinicko-patologickou korelaci pro podezření na onemocnění a zvyšuje tak schopnost lékaře přesně diagnostikovat pacientovu nemoc. Při skenování se zdroj rentgenového záření a detektory otáčejí a stůl se neustále pohybuje, tím se výrazně krátí doba trvání vyšetření, a dochází k rychlému poskytnutí výsledků (Patel and De Jesus, 2023).

Charakteristickými radiologickými znaky při diagnostice IA jsou tvary „půlměsíc“ a „svatozář“. Znak půlměsíce u neutropenických pacientů často chybí a může se objevit až v pozdějším stádiu. Někteří autoři se domnívají, že znak půlměsíce byl méně často pozorován u mladších dětí ve srovnání se staršími dětmi/adolescenty (Frange *et al.*, 2015).

CT hrudníku se provádí, pokud pacient s vysokým rizikem invazivní aspergilózy má příznaky, mezi které patří přetrvávající horečka (rezistentní na širokospektrální antibiotika), kašel, dušnost, hemoptýza nebo pleuritická bolest na hrudi. CT se provádí i při pozitivním testu na galaktomanan nebo pozitivní kulturu sputa/BAL na *Aspergillus*. Hlavní nálezy CT se kategorizují na angioinvazivní formu a invazivní formu dýchacích cest.

O angioinvasivní formu se jedná, pokud jsou na obrazu CT nalezeny alespoň dva z následujících znaků: znak halo, konsolidace ve tvaru infarktu nebo znak vnitřního nízkého útlumu, dutiny nebo vzduchového pŕlměsíce (obr. 7).

Invazivní forma infekce dýchacích cest představuje nález alespoň dvou z následujících znaků: malé léze dýchacích cest, peribronchiální konsolidace nebo bronchiektázie. Můžse jednat i o kombinovanou formu, pokud nálezy CT splňují kritéria pro obě formy nebo neurčitou, pokud nález nespĺňuje žádné z výše uvedených kritérií (Jung *et al.*, 2017).



Obrázek 7 – CT hrudníku při invazivní plicní aspergilóze. (a) CT hrudníku ukazující 3 uzlíky (žluté šipky). halo, (b) CT hrudníku ukazující znak srpku vzduchu v parenchymálním okénku (zelená šipka), Centrální nekróza v konsolidované zóně. (Desoubeaux *et al.*, 2014)

3.5. Výskyt ve světě

Údaje z více než 120 zemí byly použity k odhadu roční incidence mykotických onemocnění pro období 2019–2021. Odhad celosvětové úmrtnosti na invazivní mykotická onemocnění je 3 752 000 lidí, z toho se u více než 2 113 000 lidí rozvine invazivní aspergilóza s letalitou 1 801 000 (85,2 %) (Denning, 2024).

Dall (2024) shrnul údaje z literatury publikované od roku 2010 do roku 2023, spolu s 85 články. Přehled odhaduje, že více než 6,55 milionů lidí je ročně postiženo invazivní houbovou infekcí, z nichž u více než 2,1 milionů se jedná o invazivní aspergilózu.

3.5.1. Kazuistika 1

Muž (62 let) byl přijatý do nemocnice s kašlem, dušností, únavou a anorexií. Léčil se s chronickou lymfocytární leukémií (CLL), kdy 6 týdnů před příjmem začal užívat ibrutinib, což je od roku 2017 schválený protinádorový lék pro léčbu CLL a dalších B-buněčných nádorů. Pacient nahlásil, že nebyl v žádném kontaktu s tabákem, prachem ani se zvířaty. Laboratorní testy ukázaly, že muž trpí anémií, leukocytózou, má snížený počet krevních destiček, avšak počet neutrofilů je v normě. CT plic ukázalo nálezy, které však před zahájením léčby ibrutinibem nebyly přítomny. Bronchoskopie dále odhalila endobronchiální nález v levém i pravém horním laloku a biopsie prokázala nekrotizující sliznici s přítomností hyf rodu *Aspergillus*. Byla provedena BAL, jejíž kultivací se prokázala přítomnost *A. fumigatus*. Test na galaktomanan z BAL byl pozitivní.

Následně byl pacient léčen vorikonazolem a ibrutinib byl vysazen. Došlo k rozvinutí hyperkalcémie a ibrutinib byl opět podáván, avšak v menších dávkách. V následujících 2 měsících byly prováděny rentgenové (RTG) snímky, které ukázaly vymizení multifokálních zákalů a uzlíků. CLL bohužel pokračovala i přes další chemoterapii a pacient zemřel 5 měsíců po zahájení léčby ibrutinibem.

Pacient při příjmu nebyl neutropenický a neměl žádné klinické nebo rentgenové důkazy pneumonie před podáním ibrutinibu, což naznačuje, že ibrutinib podporoval invazivní aspergilózu. Zejména bylo prokázáno, že neutrofilů, makrofágů a buněk vrozené imunity, které fagocytují a mají mikrobicidní účinek, exprimují cílový ibrutinib.

Autoři studie se domnívají, že ibrutinib v tomto případě podporoval IPA potlačováním enzymu, který podporuje přežívání B-lymfocytů, makrofágů a neutrofilů (Arthurs *et al.*, 2017).

3.5.2. Kazusitika 2

Pacient (muž, 50 let) s anamnézou hypertenze, *diabetes mellitus* II. typu, srdeční selhání 8 měsíců před hospitalizací, edém na dolních končetinách, ortopnoe, hemateméza a meléna. Byla mu provedena endoskopie trávicího traktu, která odhalila vřed s aktivním krvácením. Při příjmu nebyly zjištěny žádné vředy v nosní ani krční dutině, byl bez dušnosti i srdečních arytmiických ozev, přítomny byly pouze snížené dechové zvuky u pravé plíce. Pacient měl bolestivá a zvětšená játra, byl časově a prostorově dezorientován.

Po přemístění na jednotku intenzivní péče byla zahájena léčba vazodilatátory a diuretiky. Rentgenový snímek ukázal plicní zduření na pravé plíci, CT objevila uzел v dolním plicním laloku. Byla mu provedena BAL. Galaktomananový test na *Aspergillus* byl pozitivní. Biopsie prokázala zánět a nekrózu spojenou s houbovými strukturami připomínající *Aspergillus*. Byla stanovena diagnóza IPA a započala léčba lipozomálním amfotericinem B (LAmB).

Při dalších vyšetření byly objeveny léze v pravé síni a CT mozku objevila mnohočetné léze v mozečkové hemisféře. Pacient měl postižené plíce, srdce i CNS a k LAmB mu byl nasazen i posakonazol. Pacient byl hospitalizován po dobu 8 týdnů a přes špatnou prognózu bylo dosaženo klinické stability plicních, srdečních a CNS lézí. Pacient byl propuštěn s následným užíváním posakonazolu po dobu 1 roku.

Na kontrolu se dostavil v dobrém klinickém stavu. Kontrolní testy prokázaly zmenšení lézí v srdeční síni, mozečku i zmenšení otoků.

Jednalo se o nonneutropenického pacienta, jehož jediný rizikový faktor nákazy IA bylo onemocnění *diabetes mellitus*. Diabetes je často spojen s metabolickou acidózou, která může změnit pH v tkáních a zhoršit obranyschopnost těla proti patogenům. Pacienti s *diabetes mellitus* mají o 27 % vyšší riziko rozvoje IPA než běžná populace (Fernández-Trujillo *et al.*, 2023).

3.5.3. Úmrtnost

Letalita IA je vysoká a odvíjí se od stavu primárního onemocnění pacienta, lokalizací infekce, včasnosti správné diagnózy, použité profylaxe a léčby. Kvůli chybějícím jednoznačným kritériím a různé metodice (např. čas hodnocení efektu léčby) je někdy těžké porovnat jednotlivé studie.

Přehled 50 klinických studií vykonaných do roku 1995 popisuje celkovou letalitu IA 58 %. Podle místa infekce se dá často odhadnout letalita. Pacienti s plicní aspergilózou zemřeli v 59–86 % případech, vyšší letalita byla u pacientů s aspergilózou CNS, kteří zemřeli

v 88–99 % případech. Naopak nižší letalita byla u pacientů s aspergilózou nosních dutin – 66 % a nejnižší letalita podle místa infekce byla u pacientů s kožní formou aspergilózy – 25 % (Bartáková, 2007).

Invazivní aspergilóza u nonneutropenických pacientů je spojena se špatnou prognózou s úmrtností přesahující 80 %, zejména v důsledku opožděné diagnózy (Bassetti *et al.*, 2018). Neutropeničtí pacienti nemají automaticky vyšší letalitu než nonneutropeničtí pacienti s IA. Ve studii Cornillet *et al.* (2006) bylo sledováno 88 pacientů hospitalizovaných s IA. Neutropeniků bylo 52 z nichž 60 % zemřelo a nonneutropeniků s IA bylo 39 u nichž byla letalita 89 %.

Studie od Garcia-Vidal *et al.* (2015) popisuje letalitu v 90. dnu od diagnózy IA. Z celkových 152 pacientů hospitalizovaných s IA bylo v 90. den 92 (62 %) zemřelých. Nejčastější příčinou smrti bylo selhání dýchacích funkcí. Nejvíce pacientů (97,6 %) zemřelo během prvních 14 dnů od stanovení diagnózy (Garcia-Vidal *et al.*, 2015).

Inoue *et al.* (2022) ve své studii uvádí sledování 423 pacientů hospitalizovaných s IPA bez imunokompromitovaných faktorů. 262 (62 %) pacientů bylo časně diagnostikovaných (antimykotická léčba započala do 7 dnů od hospitalizace). Skupina s časnou diagnózou měla nižší letalitu (30 %), než skupina s pozdější diagnózou (42 %), jejichž léčba započala mezi 8-28 dnem od hospitalizace.

V roce 2020 byla provedena studie k posouzení incidence plicní aspergilózy asociované s chřipkou (IAPA). V letech 2005 až 2014 bylo v USA hospitalizováno 477 556 pacientů s chřipkou, z nichž 823 pacientů mělo IAPA a zemřeli. Těch, kteří zemřeli na IAPA bylo jednoznačně více než pacientů bez IAPA (20,6 % vs. 1,4 %). Souhrnná míra úmrtnosti u kriticky nemocných pacientů s chřipkou byla 33,4 % (Chong *et al.*, 2021).

3.6. Výskyt onemocnění v ČR

Podle Českého statistického úřadu v roce 2009 na aspergilózu zemřeli celkem 2 lidé, jeden starší 40 let a druhému bylo nad 60 let. V roce 2013 to byli 4 lidé, všichni tito zemřelí byli starší 60 let. Přehled počtu zemřelých na aspergilózu v letech 2011-2021 znázorňuje tabulka 1 (Český statistický úřad, 2021).

Tabulka 1 – Přehled počtu zemřelých na aspergilózu v letech 2011-2021 (upraveno dle Českého statistického úřadu, 2021)

Rok	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Počet	0	3	4	5	9	5	3	4	5	6	10

Státní zdravotní ústav hlásil v roce 2022 jeden případ vzniku exogenní alergické alveolity způsobené *A. fumigatus* jakožto nemoc z povolání (Fenclová *et al.*, 2023).

I přes to, že se jedná o závažné onemocnění, v současné době IA není zahrnuta mezi infekční nemoci, které podléhají povinnému hlášení, jak vyplývá ze zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů a vyhlášky č. 389/2023 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybraná infekční onemocnění.

3.6.1. Kazuistika 3

Muž narozený v roce 1949 byl léčen s hypertenzí, hyperlipidemií a chronickou obstrukční plicní nemocí. Pracoval v uhelných dolech jako horník, byl celoživotní nekuřák. Jeho základní diagnózou byla ischemická choroba srdeční. Po splnění všech indikačních kritérií a absenci kontraindikací byl zařazen na čekací listinu k transplantaci srdce, která byla provedena 23. 3. 2012.

Potransplantační průběh komplikovalo podezření na akutní rejekci štěpu, proto byla 12. 4. pacientovi zavedena drenáž perikardu. Vzhledem ke krátkému odstupu od transplantace a negativní endomyokardiální biopsii byl pacient přeléčen kortikoidy.

V dobrém klinickém stavu byl pacient 30. 4. propuštěn domů, avšak o 17 dní později si pacient stěžoval na dušnost, nechutenství a únavu. Z odběrů bylo zřejmé, že došlo ke zhoršení renálních funkcí, také byla zaznamenána mírně zvýšená hodnota C-reaktivního proteinu (90 mg/l). Dle RTG a CT plic byla nalezena vícečetná ložiska s halo znamením, z nichž největší mělo průměr 46 mm (obr. 8). Bylo zahájeno podávání antibiotik, odebrání séra pro stanovení atypických respiračních patogenů, stanovení galaktomananu a byla provedena PCR ke stanovení přítomnosti cytomegalovirů. Pacient se však klinicky zhoršoval a musel být přeložen na jednotku intenzivní péče. Následovala bronchoskopie i BAL, galaktomanan z BAL i ze séra byl negativní, taktéž běžná kultivace. Z PCR byl ale zachycen pozitivní nález *A. fumigatus*, který byl posléze potvrzen i kulturačně.

Od 25. 5. pacient namísto flukonazolu dostává vorikonazol 200 mg à 12 h. Po úpravách dávek se postupně stav pacienta stabilizoval.

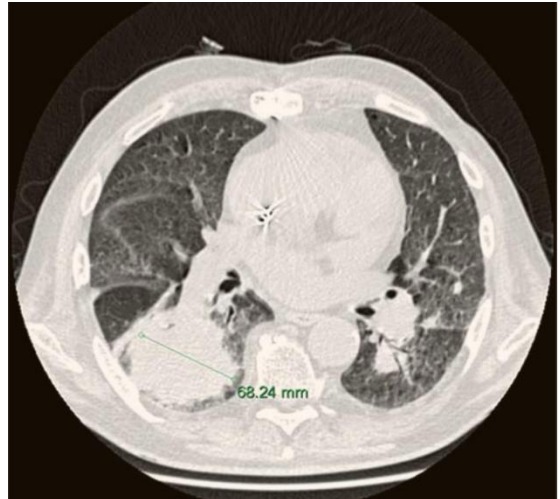
Po 14 dnech cílené terapie, bylo provedeno kontrolní vyšetření CT plic s progresí nálezu (obr. 9). Do kombinace s vorikonazolem byl přidán amfotericin B. U pacienta došlo k rozvoji katéetrové sepse, a byl nasazen vankomycin. Po předchozím nadějném vývoji se stav pacienta zhoršil, objevila se hyposaturace s nutností oxygenace, klidová dyspnoea, leukopenie a neutropenie. Byl podáván růstový faktor filgrastim s úpravou krevního obrazu. Stav pacienta

dále progredoval do respirační insuficience, došlo k dalšímu vzestupu hodnot CRP a teplot, následoval rozvoj poruchy vědomí a pacient 24. 6. 2012 zemřel na sepsi.

Pacient mohl mít již pretransplantačně kolonizovány plíce aspergilovými sporami, zejména vzhledem k dřívější práci v uhelných dolech. U pacientů po transplantaci plic se ukázalo, že samotná kolonizace zvyšuje riziko rozvoje IA až jedenáctkrát. Nález rejekce štěpu byl spíše důsledkem snížení imunopresiv ve snaze zvládnout agresivní infekci (Godava *et al.*, 2016).



Obrázek 8 - Ložisko s průměrem 46,14 mm, 17.5. 2012
(Godava *et al.*, 2016)



Obrázek 9 – Ložisko s průměrem 68,24 mm, 8.6. 2012
(Godava *et al.*, 2016)

4. Léčba a prevence

4.1. Antifungální léčba

Možnosti léčby IA v současnosti zahrnují tři třídy antimykotik, a to azoly, polyeny a echinokandiny. Tyto třídy se mezi sebou liší výraznými výhodami či nedostatky zejména v podmínkách obtížně léčitelné formy IA, zahrnujících toleranci/rezistenci vůči lékům, omezení lékových interakcí nebo závažnou orgánovou dysfunkci.

Stále častěji se objevují kmeny rezistentní na azoly, tyto případy jsou hlášeny již ze šesti kontinentů, což představuje výzvu pro výzkum nových léčiv (Boyer *et al.*, 2023).

4.1.1. Azoly

Vorikonazol je triazolové antimykotikum druhé generace, které je již téměř dvě desetiletí doporučováno jako lék první volby IA. Širokospektrální triazoly inhibují syntézu ergosterolu v membráně hub, což vede k buněčné smrti (Jenks and Hoenigl, 2018). Většina pacientů však není schopna tolerovat dlouhodobou léčbu kvůli závažným komplikacím, jako je nefrotoxicita (Shilpy *et al.*, 2022). Několik triazolů druhé generace, zejména vorikonazol a isavukonazol, jsou vhodnými alternativami polyenu lipozomálního amfotericinu B (Jenks and Hoenigl, 2018), neboť prokázali lepší účinnost a méně vedlejších účinků (Shilpy *et al.*, 2022).

Mezi nejčastější nežádoucí účinky vorikonazolu patří hepatotoxicita, dočasné poruchy zraku, fototoxické jevy (např. kožní vyrážka, erythrodermie), tachyarytmie a psychické/psychiatrické nežádoucí účinky, jako jsou halucinace (často způsobené intravenózní (i.v.) aplikací a mohou vymizet během léčby nebo pokud se přejde na perorální podání), přičemž některé z nich jsou závislé na dávce (Boyer *et al.*, 2023).

Vorikonazol je oficiálně schválený pro léčbu IA a je dostupný ve formě tablet, suspenze a intravenózního podání. Studie hodnotila u 144 pacientů s primárním hematologickým onemocněním a IA, intravenózní podávání vorikonazolu a 133 pacientům byl intravenózně podáván deoxycholát amfotericin B (DAmB). Po dvanácti týdnech došlo u 52,8 % pacientů léčených vorikonazolem k odpovědi na léčbu (úplné 20,8 % a částečné 31,9 %) oproti skupině s amfotericinem B, kde procentuální úspěšnost léčby byla 31,6 % (úplná 16,5 % a částečná 15,0 %), což je statisticky významný rozdíl. Současně byla po 12 týdnech sledována míra přežití, která ve skupině s vorikonazolem činila 70,8 % oproti 57,9 % ve skupině s amfotericinem B, což bylo opět statisticky významné. Ve skupině s vorikonazolem bylo méně nežádoucích účinků, avšak rozmazané vidění a fotofobie, byly běžné (Jenks and Hoenigl, 2018).

Isavukonazol, dostupný ve formě kapslí a i.v., je dalším triazolem preferovaným pro léčbu IA. Ve studii SECURE bylo 527 pacientům s IA podáván isavukonazol nebo vorikonazol. Nežádoucí účinky související s lékem byly významně vyšší ve skupině s vorikonazolem ve srovnání se skupinou s isavukonazolem (60 % oproti 42 %) (Jenks and Hoenigl, 2018).

Studie uvádějí, že isavukonazol je stejně účinný jako vorikonazol. V případě intolerance nebo refrakterního onemocnění po 7 dnech terapie antimykotiky první linie, se doporučuje změnit lékovou třídu, což ve většině případů znamená přechod z azolu na polyeny.

Alternativou kombinované terapie může být např. echinokandin. V některých případech s nežádoucími účinky nebo nedostatečnými hladinami vorikonazolu jsou potenciálními alternativami také isavukonazol nebo posakonazol v tabletové či nitrožilní formě.

Indikace itrakonazolu jsou velmi omezené, vzhledem k jeho špatné absorpci a nepředvídatelné farmakokinetice, ale lze jej považovat za alternativní látku. Obecně mohou azoly způsobit různé lékové interakce (Boyer *et al.*, 2023).

4.1.2. Polyeny

Amfotericin B je polyen, který se váže na ergosterol v membránách hub, kde vytváří póry a vede k buněčné smrti. Využívají se dvě formy, deoxycholát amfotericin B a lipozomální amfotericin B (Jenks and Hoenigl, 2018).

DAmB již není podporován kvůli častým nežádoucím účinkům, zejména renální toxicitě a byl tak z velké části nahrazen lipozomální formou. Ve výjimečných situacích však může být použit, pokud nejsou k dispozici žádná jiná antimykotika.

LAmB se doporučuje pro druhou linii nebo záchrannou terapii IA. Pokud nelze podávat azoly z důvodu kontraindikací nebo nesnášenlivosti, je LAmB schůdnou alternativou. Mezi časté nežádoucí účinky patří návaly horka, příznaky související s infuzí (např. horečka, zimnice), nefrotoxicita a hypokalémie. U LAmB lze očekávat nefrotoxicitu asi v 10–25 % a hypokalémii asi v 15 %. V důsledku toho se doporučuje rutinní monitorování elektrolytů a renálních funkcí (Boyer *et al.*, 2023).

Přestože se polyeny používají již mnoho desetiletí, rezistence k polyenům je ve srovnání s rezistencí k jiným antimykotikům stále vzácná. Jedním z vysvětlení je skutečnost, že ve srovnání s většinou ostatních antimykotik se polyeny zaměřují na hlavní složku buněčné membrány místo na esenciální enzym (Carolus *et al.*, 2020).

Studie AmBiLoad prokázala, že pro léčbu IA nemají vyšší dávky LAmB žádné další výhody a jsou spojeny s vyšší toxicitou ve srovnání se standardními dávkami (Boyer *et al.*, 2023).

DAmB i LAmB jsou někdy také používány v kombinované léčbě s jinými antimykotickými léky, stejně jako pro profylaxi v případech prodloužené neutropenie nebo u příjemců transplantátu plic. Výraznou výhodou kombinované terapie je snížení vedlejších účinků (Boyer *et al.*, 2023).

Celkově zůstává LAmB účinný vůči většině *Aspergillus spp.*, míra minimální inhibiční koncentrace (MIC) pro *A. fumigatus* je > 40 % a MIC pro *A. flavus* > 80 %. *A. terreus* vykazuje vnitřní rezistenci.

Ve studii EORTC 19923 byl pacientům s hematologickou malignitou nebo stavem po transplantaci kmenových buněk denně podáván LAmB buď v dávce 1 mg/kg nebo LAmB v dávce 4 mg/kg. Z 87 pacientů nebyl mezi těmito dvěma skupinami žádný rozdíl na RTG, šestiměsíčním přežití nebo úmrtí. Šestiměsíční míra přežití byla v obou skupinách kolem 40 %, přičemž asi 50 % těchto úmrtí bylo považováno za související s IA.

Ve studii AmBiLoad byl hodnocen LAmB buď v dávce 3 mg/kg/den, nebo 10 mg/kg/den po dobu 14 dnů a následně 3 mg/kg denně. Mezi těmito dvěma skupinami nebyl žádný rozdíl v klinické odpovědi nebo přežití. Zatímco LAmB zůstává důležitým prostředkem pro léčbu IA, vysoká míra toxicity a vedlejších účinků, vedly k výzkumu jiných, lépe tolerovaných látek (Jenks and Hoenigl, 2018).

Značný zájem je o kombinovanou antimykotickou terapii IA kombinující echinokandin s azolem nebo amfotericinem B. Antimykotika s odlišnými mechanismy účinku nabízejí možnost synergické aktivity proti invazivním patogenním mikroorganismům při použití v kombinaci.

Možnost antagonismu vyvstává, pokud jsou některá z těchto léčiv podávána v kombinaci s léky blokujícími syntézu ergosterolů, a jsou podány postupně a zejména, pokud jsou aplikovány před polyeny.

Nejčastějším důvodem pro použití nebo zkoumání kombinované léčby je naděje na dosažení synergie. Nicméně existují rizika (škodlivé účinky, útlum aktivity, zvýšená rezistence nebo toxicita, zvýšené náklady či lékové interakce), která musí být pečlivě zvážena. Při absenci dobře kontrolovaného klinického hodnocení není kombinace antimykotik pro primární terapii IA rutinně doporučována, ale může být zvážena v kritických situacích (Garbati *et al.*, 2012).

4.1.3. Echinokandiny

Mikafungin spolu s kaspofunginem a anidulafunginem jsou antimykotika patřící do skupiny echinokandinů. Tyto látky primárně inhibují fungální syntázu, která je klíčovou složkou buněčné stěny (Panackal *et al.*, 2014).

Mikafungin má silnou *in vitro* a *in vivo* reakci proti druhům rodu *Aspergillus*, avšak nereaguje proti zástupcům řádu *Mucorales*. Mikafungin je schválen k léčbě pacientů, u kterých se předpokládá neutropenie trvající po dobu nejméně 10 dnů (Enoch *et al.*, 2014). Bylo prokázáno, že mikafungin je srovnatelný s kaspofunginem, pokud jde o úmrtí a nežádoucí účinky, ale může být zapotřebí vyšší dávka. Projev invazivní aspergilózy nastal u 13 % příjemců kaspofunginu a u 0 % příjemců AmB (Panackal *et al.*, 2014).

Kaspofungin je schválen pro léčbu invazivní aspergilózy u pacientů, kteří jsou rezistentní na jiné látky nebo je netolerují. Pro primární léčbu IA v monoterapii schválen není, protože pozorovaná míra odpovědi (33 %) byla nižší než u amfotericinu B nebo vorikonazolu (Enoch *et al.*, 2014). Ve studii Maertens *et al.*, z roku 2004 bylo zjištěno, že kaspofungin má 45% pozitivní terapeutickou odpověď na kritickou léčbu IA, většinou v souvislosti s refrakterním plicním onemocněním. Na základě těchto údajů byl kaspofungin schválen pro alternativní, ale nikoli primární terapii IA (Panackal *et al.*, 2014). Ve studii EORTC byl pacientům s IA po transplantaci kmenových buněk podáván nejméně 15 dní intravenózní kaspofungin. Po 12 týdnech mělo 33 % pacientů úplnou nebo částečnou odpověď na terapii. Přežití po 6 týdnech bylo 79 % a po 12 týdnech 50 %. Podobné výsledky ukazuje i studie EORTC phase II, kde byl pacientům minimálně 15 dní podáván kaspofungin, po 6 týdnech byla míra přežití 66 % a po 12 týdnech 53 % (Jenks and Hoenigl, 2018).

Další echinokandin, aminokandin, je stále ve vývoji a na myším modelu diseminovaného onemocnění má silnou fungicidní aktivitu proti rodu *Aspergillus*, snižuje zátěž orgánů a zlepšuje přežití ve srovnání s jinými echinokandiny (Panackal *et al.*, 2014).

Echinokandiny se zřídka používají jako monoterapie kvůli omezené klinické účinnosti, a proto se důrazně doporučují pouze v kombinaci s jinými antimykotiky. Odborný posudek publikovaný v roce 2015 o kmenech *Aspergillus fumigatus*, odolných vůči azolům, upřednostňuje LAmB před monoterapií echinokandinem (Boyer *et al.*, 2023).

Echinokandiny jsou metabolizovány v játrech s poločasem rozpadu 9-26 hodin, což umožňuje dávkování jednou denně. Vyrábí se pouze intravenózní forma, která umožňuje distribuci do široké škály orgánů, včetně mozku (Panackal *et al.*, 2014). Perorální forma se nepodává, jelikož nejsou perorálně biologicky dostupné (Shigle and Handy, 2023).

4.1.4. Rezistence na léčiva

4.1.4.1. Azolová rezistence

Azolová rezistence je schopnost houbových kmenů překonat dávky azolových léků, které vykazují antifungální aktivitu v citlivých izolátech. Prahové hodnoty, které odlišují rezistentní kmeny od citlivých, jsou stanoveny minimální inhibiční koncentrací.

Mechanismus odpovědný za antimykotickou rezistenci je u azolů vazba na protein Cyp51. Přesné fyziologické účinky odvozené z inhibice Cyp51 na buněčnou biologii hub však zůstávají nejasné a specifika fungicidního účinku azolů na zástupce rodu *Aspergillus* jsou v současné době studována.

Mechanismy přispívající ke vzniku rezistentních fenotypů u *Aspergillus* lze rozdělit na 3 druhy, kdy může docházet buď ke změnám v Cyp51 proteinu, a tyto změny snižují afinitu mezi azolovým léčivem a jeho cílem. Dále se může jednat o nadměrnou expresi cílového enzymu, která zvyšuje koncentraci azolu nezbytnou k inhibici růstu plísní nebo jsou regulovány systémy efluxní pumpy ke snížení intracelulární koncentrace léčiva. Byly však navrženy i další mechanismy, včetně vytváření biofilmu, reakce na buněčný stres, enzymatické degradace léčiva a aktivace alternativních cest k obejití účinků léčiva (Perez-Cantero *et al.*, 2020).

Zatímco klinické izoláty rodu *Aspergillus* rezistentní na azoly byly hlášeny z mnoha částí světa, míra rezistence zůstává ve většině případů nízká a neovlivňuje primární volbu antimykotické terapie (Jenks and Hoenigl, 2018).

Azolová rezistence u druhu *A. fumigatus* je velkým problémem, který komplikuje léčbu pacientů. Zhang *et al.* (2021) uvádí, že 90 % izolátů *A. fumigatus* získaných od pacientů s invazivní aspergilózou bylo rezistentních na azoly. V celostátním průzkumu holandských hematologických center z roku 2016 byl izolován *A. fumigatus* u 784 pacientů, z toho 101 izolátů (12,9 %) vykazovalo rezistenci na triazoly, což je nárůst z 10,7 % izolátů v roce 2015 a 7,2 % izolátů v roce 2014. Předpokládá se, že tato zvyšující se odolnost vůči triazolům je způsobena environmentálním používáním azolových fungicidů (Jenks and Hoenigl, 2018). Naopak Wiederhold (2023) uvádí azolovou rezistenci u *A. fumigatus* pouze u 2,09 % izolovaných vzorků v roce 2019.

U druhu *A. flavus* se rezistence vůči azolům objevuje zřídka (Rudramurthy *et al.*, 2019).

Druh *A. terreus* má také sníženou rezistenci na azoly (Zoran *et al.*, 2018) a druh *A. niger* je rezistentní na itrakonazol (Rajendran *et al.*, 2016).

4.1.4.2. Rezistence na polyeny

Pravděpodobný mechanismus rezistence na polyeny funguje na bázi katalázy, která působí proti oxidativnímu stresu vyvolanému AmB, který by jinak vedl k buněčné smrti (Carolus *et al.*, 2020).

Z důvodů rezistence proti polyenům u druhu *A. fumigatus*, je potřebná vyšší MIC antimykotika k inhibici růstu (Shishodia *et al.*, 2019).

Rezistence na AmB byla pozorována u 1128 z 3061 u kmenů *A. terreus* (36,8 %), 538 z 3663 kmenů *A. flavus* (14,9 %), 141 z 2691 testovaných kmenů *A. niger* (5,2 %) (Fakhim *et al.*, 2022).

4.1.4.3. Rezistence na echinokandiny

Mechanismus rezistence na echinokandiny spočívá v mutaci genů zodpovědných za syntézu (1,3)- β -D-glukanu v oblasti hot-spot. Tyto mutace způsobují substituci aminokyselin a mění vazebnou afinitu k léčivu. (Satish and Perlin, 2019).

Jedním z důvodů rezistence proti echinokandinům u druhu *A. fumigatus*, je potřebná vyšší MIC antimykotika k inhibici růstu (Shishodia *et al.*, 2019).

U druhu *A. flavus* byla objevena rezistence proti kaspofunginu (De Francesco, 2023).

4.2. Chirurgická léčba

V některých situacích může být nezbytný chirurgický zákrok. Jedná se o případy, kdy je patogenní houba rezistentní na lékovou terapii, rozsah onemocnění je takový, že je nutná otevřená chirurgická resekce a nebo je chirurgický zákrok poslední možností záchrany pacienta v život ohrožujících stavech (Panackal *et al.*, 2014). U pacientů s rozsáhlým onemocněním by měla být zvážena časná chirurgická intervence, i přestože jsou na vhodné antimykotické léčbě (Mahendran and Urbine, 2021).

Ve studii Panackal *et al.* (2014) bylo u dětských onkologických pacientů s IA provedeno 24 chirurgických výkonů. Tříměsíční celkové přežití bylo 94,4 % s minimálními komplikacemi a polovina z nich byla ještě po letech naživu (Panackal *et al.*, 2014).

Ukázalo se, že neurochirurgická intervence hraje zásadní roli v léčbě mozkové aspergilózy a je spojena s lepšími výsledky ve srovnání se samotnou léčbou. Kombinace vorikonazolu a chirurgické resekce vykazuje lepší odpověď a přežití než jakákoli jiná terapie.

Bylo sledováno 248 pacientů, 102 podstoupilo chirurgický zákrok a z toho 79 přežilo (77,5 %) zatímco 146 chirurgický zákrok nepostoupilo, a z této skupiny přežilo 89 pacientů

(61 %). Tato analýza ukázala statisticky významné zvýšení přežití u pacientů, kteří podstoupili operaci, bez ohledu na typ operace, ve srovnání s těmi, kteří ji nepodstoupili (Pajer *et al.*, 2021).

4.3. Imunoterapie

Dle nových poznatků v patofyziologii IA by jakožto nová doplňková léčba nebo profylaxe mohla být imunoterapie.

Na rozdíl od antimykotik, která se přímo zaměřují na zástupce rodu *Aspergillus*, imunoterapie zesiluje antifungální odpověď hostitele k lepšímu odstranění spor nebo hyf. Možné strategie pro zlepšení antifungální imunity zahrnují humorální imunitu (tj. protilátky, cytokiny, cytokinová blokáda, inhibitory kontrolních bodů) a vakcinaci.

V preklinické práci byly pozorovány příznivé výsledky s rekombinantním interferonem-gama (rIFN- γ), který zvyšuje fagocytární antifungální aktivitu, a inhibitory kontrolních bodů (např. anti-PD-1), které působí proti vyčerpání imunitních buněk.

Zajímavým postupem je použití alogenní granulocytární transfuze u neutropenických pacientů. Tato technika však vyžaduje další optimalizaci, protože několik studií nedokázalo prokázat přínos týkající se IA.

Pro léčbu IA jsou v současné době velice slibné T-buňky. Pozitivní výsledek má adoptivní přenos T-buněk, u příjemců alogenních transplantátů kmenových buněk s IA, kdy byly *ex vivo* stimulovány pacientovy CD4 + T-buňky s buňkami rodu *Aspergillus* a následně znovu podány infuzí. Ještě větší potenciál by mohlo mít použití chimérického antigenního receptoru CD8 + T-buněk, které exprimují umělý receptor T-buněk specifický pro rod *Aspergillus*, jak ukázaly povzbudivé výsledky na myším modelu.

Použitím vakcinace, k prevenci IA, byly získány pozitivní výsledky na několika myších modelech. Aby se vakcinace stala běžně používanou prevencí IA, je důležité, aby skupina B a T buněk dostatečně fungovala, což je problém u mnoha těžce imunokompromitovaných pacientů s IA.

Vzhledem k nedostatku studií u pacientů s IA není v současné době žádný z výše uvedených přístupů součástí standardní péče (Boyer *et al.*, 2023).

4.4. Prevence

Hlavním preventivním opatřením, především při stavebních pracích v okolí nemocničních zařízení, je správně fungující systém ventilací. V ideálním případě by měli být pacienti ještě před samotným zahájením stavebních prací přemístěni mimo staveniště, aby se snížilo riziko

vystavení prachu. V současné době jsou doporučovány přetlakové větrané místnosti, které jsou navrženy tak, aby chránily imunokompromitovaného pacienta před infekčními chorobami, především těmi, co se šíří vzduchem. U stávajících ventilací může být vyžadována modernizace v závislosti na typu pacienta, který má být v těchto jednotkách umístěn, klasifikaci stavební činnosti a celkovém posouzení rizik. Pokud se systém regulace okolního prostředí v místnosti skládá z více součástí, jako jsou filtrační jednotky HEPA, radiátory, chladicí jednotky a odsávací ventilátory toalet, měly by splňovat podmínky a normy pro kontrolu vnitřního prostředí (Talento *et al.*, 2019).

Pacienti a zaměstnanci nemocničních zařízení, se rozdělují do 4 skupin dle rizika nákazy invazivní aspergilózou. Skupina bez evidentního rizika zahrnuje všechny zaměstnance, poskytovatele služeb, dodavatele a také pacienty, kteří se nenachází v žádné další skupině. Do skupiny s vyšším rizikem nákazy patří pacienti s dlouhodobou léčbou vysokými dávkami steroidů nebo antagonistů tumor nekrotizujícího faktoru α , dále pacienti s těžkou imunosupresí – AIDS, pacienti na umělé plicní ventilaci, neutropeničtí pacienti na chemoterapii a dialyzovaní pacienti. Do skupiny vysoce rizikových jsou zařazeni pacienti s neutropenií trvající do 14 dnů po chemoterapii, pacienti po autologní transplantaci kmenových buněk, dospělí trpící akutní lymfoblastickou leukémií na vysokých dávkách steroidů, pacienti po transplantaci orgánů, pacienti s chronickým granulomatózním onemocněním, novorozenci na jednotkách intenzivní péče, pacienti s chronickou obstrukční plicní nemocí (CHOPN), pacienti se závažnou chřipkou a pacienti s rozsáhlými popáleninami. Ve skupině s velmi vysokým rizikem nákazy se nachází pacienti po alogenní transplantaci kmenových buněk během neutropenického období nebo pokud jsou tito pacienti léčeni imunosupresivní léčbou či vysokými dávkami steroidů, dále pacienti s akutní myeloidní leukémií, pacienti po nemyeloablativní transplantaci, děti se závažným syndromem kombinované imunodeficiencie, pacienti s prodlouženou neutropenií po dobu >14 dnů po chemoterapii nebo imunosupresivní terapii a pacienti s aplastickou anémií.

Ve studii dle Combariza *et al.* (2017) bylo sledováno 86 pacientů, z toho 31 ve skupině bez opatření a 55 ve skupině s preventivními opatřeními. Výskyt IA byl vyšší ve skupině bez environmentálních kontrolních opatření (25,8 % vs. 12,4 %). Bylo zjištěno, že nejúčinnějším opatřením pro prevenci IA je použití místností s HEPA filtrem (Combariza *et al.*, 2017).

Profylaxe je dalším preventivním opatřením před nákazou *Aspergillus*. Rozlišují se tři typy profylaxe. Univerzální profylaxí se rozumí antimykotická léčba zahájená v pooperačním období u všech pacientů po transplantaci bez pozitivního nálezu houbového patogenu. Cílená

profylaxe se týká antimykotické medikace zahájené v potransplantačním období před izolací jakéhokoli houbového patogenu nebo před pozitivním sérologickým markerem plísně a je předepisována pouze pacientům s vyšším rizikem nákazy (např. infekce nebo zvýšená imunosuprese). Preemptivní antimykotická léčba znamená antimykotikum podávané po transplantaci s pozitivním průkazem houbového patogenu nebo pozitivním sérologickým markerem houby, při absenci jakýchkoli příznaků invazivní houbové infekce (Villalobos and Husain, 2020).

ZÁVĚR

Invazivní aspergilóza je závažné onemocnění způsobené druhy rodu *Aspergillus*, nejčastěji *Aspergillus fumigatus*. Toto onemocnění postihuje primárně imunokompromitované pacienty, např. po chemoterapii, transplantaci orgánů nebo pacienty trpící HIV. Formy onemocnění se liší dle místa vzniku a mohou se šířit i do dalších orgánů, způsobovat vážné zdravotní komplikace a vést až k život ohrožujícím stavům.

Současná léčba zahrnuje použití antimykotických látek, jako jsou azoly, polyeny a echinokandiny. Účinnost této léčby je však ohrožena šířením rezistentních druhů, zejména k azolovým antimykotikům. Rezistence na azoly se vyskytuje převážně u *A. fumigatus*. Proto se někdy antimykotika nasazují v kombinaci s jinou třídou antimykotik, např. kombinace echinokandinu s azolem nebo amfotericinem B. Mezi standardní postupy léčby patří i chirurgické zákroky k odstranění abscesů, či jiných infekčních ložisek, přičemž kombinace chirurgické léčby s podáním vorikonazolu se jeví jako úspěšná.

V budoucnu by léčba mohla zahrnovat imunoterapii, která zesiluje antifungální odpověď hostitele k lepšímu odstranění spor nebo hyf. Velký potenciál pro zlepšení výsledků léčby invazivní aspergilózy má rIFN- γ , který zvyšuje fagocytární antifungální aktivitu, dále použití alogenní granulocytární transfuze u neutropenických pacientů nebo adoptivní přenos T-buněk. V neposlední řadě se jeví účinná vakcinace, u které je důležité, aby skupina B a T buněk dostatečně fungovala. V současné době jsou imunoterapeutické postupy testovány především na myších a patří mezi nestandardní léčbu.

Preventivními opatřeními před onemocněním je především dodržení sterilního prostředí jak během operací, tak v době po operaci (např. umístění imunokompromitovaného pacienta do místností s HEPA filtry či jinými schválenými ventilacemi), aby nedošlo k inhalaci či zavedení spor do organismu pacienta, a taktéž zahájení profylaxe – nasazení antimykotické léčby po transplantaci.

Nadále probíhají studie nejen k vývoji nových léčiv, které budou účinnější a budou mít méně nežádoucích účinků, ale rozvíjí se i nové možnosti léčby např. v oblasti imunoterapie, což představuje naději pro pacienty s invazivní aspergilózou.

POUŽITÁ LITERATURA

- Abd-elsalam K. A., Alghuthaymi M. A., Shami A., Rubina M. S., Abramchuk S. S., Shtykova E. V., Yu Vasil'kov, A. Copper-chitosan nanocomposite hydrogels against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* from dairy cattle feed. *Journal of fungi* [online]. 2020, 6(3), 112. [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jof6030112>
- Alanio A., Bretagne S. Challenges in microbiological diagnosis of invasive *Aspergillus* infections. *F1000 research* [online]. 2017, 6, 157. [cit. 2.11. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5321116/>
- Alquraish F. A., AlQattan A. S., Al-Shammari T. Surgical site invasive aspergillosis in immunocompetent patient secondary to Kramericeae herb: case report. *International journal of surgery case reports* [online]. 2023, 105, 108026. [cit. 28. 11. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10070630/>
- Amutha K., Godavari A. Identification of *Aspergillus terreus* using 18S rRNA gene sequence. *Asian journal of biochemical and pharmaceutical research* [online]. 2014, 4(2), 255-259. [cit. 15. 6. 2024]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/323945446_Identification_of_Aspergillus_terreus_using_18S_rRNA_gene_sequence
- Arastehfar A., Carvalho A., Houbraken J., Lombardi L., Garcia-Rubio R., Jenks J.D., Rivero-Menendez O., Aljohani R., Jacobsen I.D., Berman J., Osherov N., Hedayati M.T., Ilkit M., Armstrong-James D., Gabaldón T., Meletiadis J., Kostrzewa M., Pan W., Lass-Flörl C., Perlin D.S., Hoenigl M. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: From basics to clinics. [online]. 2021, 100, 100115. [cit. 18. 2. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100115>
- Arthurs B., Wunderle K., Hsu M., Kim S. Invasive aspergillosis related to ibrutinib therapy for chronic lymphocytic leukemia [online]. 2017, 21, 27-29. [cit. 18. 2. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2017.03.011>
- Bandres M. V., Modi P., Sharma S. *Aspergillus Fumigatus* (Archived). *StatPearls* [online]. 2023. [cit. 28. 11. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482464/>
- Bartáková H., Cetkovský P., Drgoňa E., Haber J., Hamal P., Kocmanová I., Kouba M., Koukalová D., Lengerová M., Mallátová N., Mayer J., Mencl K., Ráčil Z., Tesařová M. Invazivní aspergilóza: současné možnosti diagnostiky. *Vnitřní lékařství* [online]. 2007, 53. [cit. 16. 2. 2024]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2007/dokumenty/supplementum-2007-11>
- Bassetti M., Giacobbe D.R., Grecchi C., Rebuffi C., Zuccaro V., Scudeller L. Performance of existing definitions and tests for the diagnosis of invasive aspergillosis in critically ill, adult patients: A systematic review with qualitative evidence synthesis. *Journal of infection* [online]. 2020, 81(1), 131-146. [cit. 24. 3. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.065>

- Bassetti M., Peghin M., Vena A. Challenges and solution of invasive aspergillosis in non-neutropenic patients: a review. *Infectious diseases and therapy* [online]. 2018, 7(1), 17-27. [cit. 28. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5840102/>
- Boyer J., Feys S., Zsifkovits I., Hoenigl M., Egger M. Treatment of invasive aspergillosis: how it's going, where it's heading. *Mycopathologia* [online]. 2023, 188(5), 667-681. [cit. 6. 5. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10132806/>
- Carolus H., Pierson S., Lagrou K., Van Dijck P. Amphotericin B and other polyenes-discovery, clinical use, mode of action and drug resistance. *Journal of fungi* [online]. 2020, 6(4), 321. [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7724567/>
- Centers of disease control and prevention. Etymologia: *Aspergillus*. *Emerging infectious diseases* [online]. 2006, 12(3), 415. [cit. 31. 10. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3291468/>
- Combariza J. F., Toro L. F., Orozco J. J. Effectiveness of environmental control measures to decrease the risk of invasive aspergillosis in acute leukaemia patients during hospital building work. *Journal of hospital infection* [online]. 2017, 96(4), 336-341. [cit. 18. 2. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.04.022>
- Cornillet A., Camus C., Nimubona S., Gandemer V., Tattevin P., Belleguic C., Chevrier S., Meunier C., Lebert C., Aupée M., Caulet-Maugendre S., Fauchoux M., Lelong B., Leray E., Guiguen C., Gangneux J. P. Comparison of epidemiological, clinical, and biological features of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients: a 6-year survey. *Clinical infectious diseases* [online]. 2006, 43(5), 577-584. [cit. 29. 6. 2024] Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article/43/5/577/504036>
- Cruciani M., Mengoli C., Barnes R., Donnelly J. P., Loeffler J., Jones B. L., Klingspor L., Maertens J., Morton C. O., White L. P. Polymerase chain reaction blood tests for the diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised people. *The Cochrane database of systematic reviews* [online]. 2019, 9(9). [cit. 29. 6. 2024] Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6719256/>
- Český statistický úřad. Zemřelí podle příčin smrti, pohlaví a věku v ČR. Krajích a okresech – 2011-2020 [online]. 2021. [cit. 15. 4. 2024] Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/ceska-republika-podle-pohlavi-a-veku-20112020>
- Dall Ch. Global mortality from fungal diseases has nearly doubled. Center for infectious disease research and policy (CIDRAP) [online]. 2024. [cit. 28. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.cidrap.umn.edu/antimicrobial-stewardship/global-mortality-fungal-diseases-has-nearly-doubled>
- De Francesco M. A. Drug-resistant *Aspergillus* spp.: a literature review of its resistance mechanisms and its prevalence in Europe. *Pathogens* [online]. 2023, 12(11), 1305. [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10674884/>
- Denning D.W. Global incidence and mortality of severe fungal disease. *The Lancet infectious diseases* [online]. 2024, 24(7), 428-438. [cit. 10.6. 2024]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00692-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00692-8)

- Desoubeaux G., Baillya É., Chandener J. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Médecine et Maladies infectieuses* [online]. 2014, 44(3), 89-101. [cit. 18. 2. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.11.006>
- Dimopoulos G., Almyroudi M., Myrianthefs P., Rello J. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis (CAPA). *Journal of intensive medicine* [online]. 2021, 1(2), 71-80. [cit. 24. 3. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jointm.2021.07.001>
- Doherty C. M., Forbes R. B. Diagnostic lumbar puncture. *The Ulster medical journal* [online]. 2014, 83(2), 93–102. [cit. 15. 4. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4113153/>
- Egger M., Jenks J. D., Hoenigl M., Prattes J. Blood *Aspergillus* PCR: the good, the bad, and the ugly. *Journal of fungi* [online]. 2020 6(1), 18. [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7151127/>
- Enoch D. A., Idris S.F., Aliyu S.H., Micallef C., Sule O., Karas J.A. Micafungin for the treatment of invasive aspergillosis. *Journal of infection* [online]. 2014, 68(6), 507-526. [cit. 6. 5. 2024]. Dostupné z: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(14\)00013-9/abstract](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(14)00013-9/abstract)
- Fakhim, H., Badali H., Dannaoui E., Nasirian M., Jahangiri F., Raei M., Vaseghi N., Ahmadikia K., Vaezi A. Trends in the prevalence of amphotericin b-resistance (AmBR) among clinical isolates of *Aspergillus* species. *Journal de mycologie medicale* [online]. 2022, 32(4), 101310. [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35907396/>
- Fenclová Z., Havlová D., Voříšková M., Urban P., Žofka J. Nemoci z povolání v České republice v roce 2022. Státní zdravotní ústav. [online]. 2023. [cit. 15. 4. 2024] Dostupné z: <https://szu.cz/wp-content/uploads/2023/04/V-roce-2022.pdf>
- Fernández-Trujillo L., Eraso I., Morales E. I., Sua L. F. Invasive aspergillosis in a patient with diabetes mellitus as the only risk factor: case report and literature review. *Journal of investigative medicine high impact case reports* [online]. 2023, 11, 1-8. [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10201002/>
- Fosses Vuong M., Hollingshead C. M., Waymack. J. R. Aspergillosis. *StatPearls* [online]. 2023. [cit. 2. 11. 2023]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29489184/>
- Frangé P., Bougnoux M.-E., Lanternier F., Neven B., Moshous D., Angebault C., Lortholary O., Blanche S. An update on pediatric invasive aspergillosis. *Médecine et maladies infectieuses* [online]. 2015, 45(6), 189-198. [cit. 24.3. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2015.04.006>
- Friedman, D. Z. P., Theel E. S., Walker R. C., Vikram H. R., Razonable R. R., Vergidis P. Serial bronchoalveolar lavage fluid *Aspergillus* galactomannan and treatment response in invasive pulmonary aspergillosis. *Open forum infectious diseases* [online]. 2024, 11(4), ofae114. [cit. 14. 4. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofae114>
- Garbati M. A., Alasmari F. A., Al-Tannir M. A., Tleyjeh I. M. The role of combination antifungal therapy in the treatment of invasive aspergillosis: a systematic review. *International*

journal of infectious diseases [online]. 2012, 16(2), 76-81. [cit. 6. 5. 2024]. Dostupné z: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(11\)00222-0/fulltext](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(11)00222-0/fulltext)

Garcia-Vidal C., Peghin M., Cervera C., Gudiol C., Ruiz-Camps I., Moreno A., Royo-Cebrecos C., Roselló E., de la Bellacasa J. P., Ayats J., Carratalà J. Causes of death in a contemporary cohort of patients with invasive aspergillosis. *Plos one*. [online]. 2015, 10(3), e0120370. [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4372359/>

Godava J., Krejčí J., Hudea P., Ozábalová E., Honek T., Němec P., Tichý M., Pažourková M., Špinarová L. Příklad invazivní aspergilózy časně po transplantaci srdce. *Cor et vasa* [online]. 2016, 58, 509–512. [cit. 10. 6. 2024]. Dostupné z: <https://e-corevasa.cz/pdfs/cor/2016/05/21.pdf>

Hedhili S., Baccouchi N., Souid H., Jemli B., Gargouri S. Comparison of real-time PCR, nested PCR, and galactomannan antigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay in sera for diagnosis of invasive aspergillosis. *Journal de mycologie médicale* [online]. 2017, 27(4), 487-493. [cit. 24. 3. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.07.005>

Homei A., Worboys M. Fungal disease in Britain and the United States 1850–2000. *Mycoses and modernity* [online]. 2013. [cit. 29. 11. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169216/>

Cho H. J., Son, S. H., Chen, W., Son, Y. E., Lee, I., Yu, J. H., Park, H. S. Regulation of conidiogenesis in *Aspergillus flavus*. *Cells* [online]. 2022, 11(18), 2796. [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells11182796>

Chong W. H., Saha B. K., Tan C. K. Clinical characteristics and outcomes of influenza associated pulmonary aspergillosis among critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hospital infection* [online]. 2021, 120, 98-109. [cit. 14. 4. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.11.016>

Inoue K., Muramatsu K., Nishimura T., Fujino Y., Matsuda S., Fushimi K., Kamochi M. Association between early diagnosis of and inpatient mortality from invasive pulmonary aspergillosis among patients without immunocompromised host factors: a nationwide observational study. *International journal of infectious diseases* [online]. 2022, 122, 279-284. [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(22\)00314-9/fulltext#%20](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(22)00314-9/fulltext#%20)

Jane L. A., Wray A. A. Lumbar puncture. *StatPearls* [online]. 2023. [cit. 16. 4. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557553/>

Janssens I., Lambrecht B. N., Van Braeckel E. *Aspergillus* and the lung. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. [online]. 2024, 45(1), 3–20. [cit. 28. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10857890/#>

Jenks J. D., Hoenigl M. Treatment of aspergillosis. *Journal of fungi* [online]. 2018, 4(3), 98. [cit. 6. 5. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6162797/>

Jia J., Yu J., Chen F., Chen W. Characterization of the asexual developmental genes *brlA* and *wetA* in *Monascus ruber* M7. *Fungal genetics and biology* [online]. 2021, 151, 103564. [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2021.103564>

- Jung J., Kim M. Y., Chong YA. P., Lee S., Choi S., Kim Y. S., Woo J. H., Kim S. Clinical characteristics, radiologic findings, risk factors and outcomes of serum galactomannan-negative invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of microbiology, immunology and infection* [online]. 2018, 51(6), 802-809. [cit. 26. 2. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2017.05.007>
- Kim J. H., Tam C. C., Chan K. L., Cheng L. W., Land K. M., Friedman M., Chang P. K. Antifungal efficacy of redox-active natamycin against some foodborne fungi-comparison with *Aspergillus fumigatus*. *Foods* [online]. 2021, 10(9), 2073. [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods10092073>
- Kubátová A. Atlas mikroskopických saprotrofních hub (*Ascomycota*). [online]. 2006. [cit. 28. 11. 2023]. Dostupné z: <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-mikroskopickyh-saprotrofnich-hub-ascomycota>
- Lass-flörl C., Dietl A. M., Kontoyiannis D. P., Brock M. *Aspergillus terreus* species complex. *Clinical microbiology reviews* [online]. 2021, 34(4). [cit. 9. 12. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8404697/>
- Li M., Xiao Y., Zhong K., Wu Y., Gao H. Delving into the biotransformation characteristics and mechanism of steamed green tea fermented by *Aspergillus niger* PW-2 based on metabolomic and proteomic approaches. *Foods* [online]. 2022, 11(6), 865. [cit. 12. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8951510/>
- Maertens J., Raad I., Petrikos G., Boogaerts M., Selleslag D., Petersen F. B., Sable C. A., Kartsonis N. A., Ngai A., Taylor A., Patterson T. F., Denning D. W., Walsh T. J. Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clinical infectious diseases* [online]. 2004, 39(11), 1563-1571. [cit. 28. 4. 2024]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article/39/11/1563/462249?login=false>
- Mahanama, A., Wilson-Davies E. Insight into PCR testing for surgeons. *Surgery* [online]. 2021, 39(11), 759-768. [cit. 8. 3. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8545672/>
- Mahato D. K., Lee K. E., Kamle M., Devi S., Dewangan K. N., Kumar P., Kang S. G. Aflatoxins in food and feed: an overview on prevalence, detection and control strategies. *Frontiers in microbiology* [online]. 2019, 10, 2266. [cit. 28. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6787635/>
- Mahendran M. Urbine D. Invasive pulmonary aspergillosis/*pseudomonas*. *BMJ Case reports* [online]. 2021, 14(7). [cit. 9.5. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8278921/>
- Mallátová N. Mycological diagnosis of pulmonary *Aspergillus* infections with a focus on serological methods. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* [online]. 2017, 66(4), 174-181. [cit. 13. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/2017-4-6/mykologicka-diagnostika-plicnich-aspergilovych-infekci-se-zamerenim-na-serologicke-metody-62695>
- Martínez J., Nevado A., Suñén E., Gabriel M., Vélez-del-Burgo A., Sánchez P., Postigo I. The *Aspergillus niger* major allergen (Asp n 3) DNA-specific sequence is a reliable marker to

- identify early fungal contamination and postharvest damage in mangifera indica fruit. *Frontiers in microbiology* [online]. 2021, 12, 663323. [cit. 12. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.663323>
- Meis J. F., Chowdhary, A., Rhodes, J. L., Fisher, M. C., Verweij, P. E. Clinical implications of globally emerging azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Philosophical transactions of The royal society* [online]. 2016, 371(1709), [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0460>
- Miceli M. H. Central nervous system infections due to *Aspergillus* and other hyaline molds. *Journal of Fungi* [online]. 2019, 5(3), 79. [cit. 14. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6787746/>
- Motarjemi Moy Y., Todd G., Ewen. Encyclopedia of food safety. [online]. 2014, 2, 289. [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEFS00001/encyclopedia-food-safety/encyclopedia-food-safety>
- Nakamura K., Matsumoto K., Inoue C., Matsusue E., Fujii S. Computed tomography-guided lung biopsy: a review of techniques for reducing the incidence of complications. *Interventional radiology* [online]. 2021, 6(3), 83–92. [cit. 15. 4. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.22575/interventionalradiology.2021-0012>
- National toxicology program. Toxicity studies of *Aspergillus fumigatus* administered by inhalation to B6C3F1/N mice. *Toxicity report series* [online]. 2021, 100, NTP-TOX-100. [cit. 28.11. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8436148/>
- Navale V., Vamkudoth K. R., Ajmera S., Dhuri V. *Aspergillus* derived mycotoxins in food and the environment: prevalence, detection, and toxicity. *Toxicology reports* [online]. 2021, 8, 1008-1030. [cit. 12. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8363598/>
- Navaratnam A. M., Al-Freah M., Cavazza A., Auzinger G. A case series of non-valvular cardiac aspergillosis in critically ill solid organ transplant and non-transplant patients and systematic review. *Journal of the intensive care society* [online]. 2021, 22(3), 241-247. [cit. 6. 3. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8373280/>
- Pajer H. B., Asher A. M., Gelinne A., Northam W., Duin D., Quinsey C. S. Impact of surgical and medical treatment on survival of patients with cerebral aspergillosis: systematic review of the literature. *World neurosurgery* [online]. 2021, 149, 244-248. [cit. 8. 5.2024]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878875021000541?via%3Dihub>
- Patel P. R., De Jesus O. CT scan. StatPearls [online]. 2023, [cit. 26. 2. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567796/>
- Perez-Cantero A., López-Fernández L., Guarro J., Capilla J. Azole resistance mechanisms in *Aspergillus*: update and recent advances. *International journal of antimicrobial agents* [online]. 2020, 55(1), 105807. [cit. 6. 5. 2024]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857919302547?via%3Dihub>
- Pinto A. C. S. M., De Pierri C. R., Evangelista A. G., Gomes A. S. L. P. B., Luciano F. B. Deoxynivalenol: toxicology, degradation by bacteria, and phylogenetic

analysis. *Toxins* [online]. 2022, 14(2), 90. [cit. 4. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/toxins14020090>

Rajendran M, Nizam T. M., Santhanam J. Determination of azole antifungal drug resistance mechanisms involving Cyp51A gene in clinical isolates of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*. *Malaysian journal of microbiology* [online]. 2016, 12(3). [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/310314634_Determination_of_azole_antifungal_drug_resistance_mechanisms_involving_Cyp51A_gene_in_clinical_isolates_of_Aspergillus_fumigatus_and_Aspergillus_niger

Rudramurthy S. M., Paul R. A., Chakrabarti A., Mouton J. W., Meis J. F. Invasive aspergillosis by *Aspergillus flavus*: epidemiology, diagnosis, antifungal resistance, and management. *Journal of fungi* [online]. 2019, 5(3), 55. [cit. 2. 11. 2023]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6787648/>

Satish S., Perlin D. S. Echinocandin resistance in *Aspergillus fumigatus* has broad implications for membrane lipid perturbations that influence drug-target interactions. *Microbiology insights* [online]. 2019, 12, 1178636119897034. [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8855445/>

Shigle T. L. and Handy V. W. Pharmacology of drugs used in hematopoietic cell transplant and chimeric antigen receptor therapies. *Manual of hematopoietic cell transplantation and cellular therapies* [online]. 2023, 11, 145-165. [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323798334000115>

Shilpy N., Pushker N., Meel R., Agrawal S., Bajaj M. S., Sharma S., Thakar A., Satapathy G., Velpandian T. Voriconazole in the treatment of invasive aspergillosis of orbit. *Medical journal armed forces India* [online]. 2022. [cit. 28. 4. 2024]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377123722001320>

Shishodia S. K., Tiwari S., Shankar J. Resistance mechanism and proteins in *Aspergillus* species against antifungal agents. *Mycology* [online]. 2019, 10(3), 151-165. [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6691784/>

Talento A. F., Fitzgerald M., Redington B., O'Sullivan N., Fenelon L., Rogers T. R. Prevention of healthcare-associated invasive aspergillosis during hospital construction/renovation works. *The journal of hospital infection* [online]. 2019, 103(1), 1-12. [cit. 9. 5. 2024]. Dostupné z: [https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(19\)30001-5/abstract](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(19)30001-5/abstract)

Viegas C., Dias M., Carolino E., Sabino R. Culture media and sampling collection method for *Aspergillus spp.* assessment: tackling the gap between recommendations and the scientific evidence. *Atmosphere* [online]. 2021, 12(1), 23. [cit. 12. 6. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/atmos12010023>

Villalobos, A. P., Husain, S. Infection prophylaxis and management of fungal infections in lung transplant. *Annals of translational medicine* [online]. 2020, 8(6), 414. [cit. 4. 6. 2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.21037/atm.2020.03.102>

Vyhláška č. 389/2023 Sb. Vyhláška o systému epidemiologické bdělosti pro vybraná infekční onemocnění. [online]. 2023 [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2023-389/zneni-20240101#p6_p6-1

Wiederhold N. P. Epidemiology and prevalence of azole-resistant *Aspergillus fumigatus*: What is our understanding of the situation? *Current fungal infection reports* [online]. 2023, 17, 177-187. [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12281-023-00469-x>

Zákon č. 258/2000 Sb. Zákon o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů. [online]. 2000 [cit. 29. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258>

Zhang J., Debets, A. J. M., Verweij P. E., Schoustra S. E. Selective Flamingo medium for the isolation of *Aspergillus fumigatus*. *Microorganisms* [online]. 2021, 9(6) 1155. [cit. 28. 11. 2023]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061155>

Zoran T., Sartori B., Sappl L., Aigner M., Sánchez-Reus F., Rezusta A., Chowdhary A., Taj-Aldeen S. J., Arendrup M. C., Oliveri S., Kontoyiannis D. P., Alastruey-Izquierdo A., Lagrou K., Cascio G. L., Meis J. F., Buzina W., Farina C., Drogari-Apiranthitou M., Grancini A., Tortorano A. M., Willinger B, Hamprecht A, Johnson E, Klingspor L, Arsic-Arsenijevic V, Cornely OA, Meletiadis J, Prammer W, Tullio V, Vehreschild JJ, Trovato L, Lewis RE, Segal E, Rath PM, Hamal P, Rodriguez-Iglesias M, Roilides E, Arikani-Akdagli S, Chakrabarti A, Colombo AL, Fernández MS, Martin-Gomez MT, Badali H, Petrikos G, Klimko N, Heimann SM, Uzun O, Roudbary M, de la Fuente S, Houbraeken J, Risslegger B, Lass-Flörl C, Lackner M. Azole-Resistance in *Aspergillus terreus* and related species: An emerging problem or a rare phenomenon? *Frontiers in microbiology* [online]. 2018, 9, 516. [cit. 5. 6. 2024]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5882871/>