

Nepodkročitelné minimum

laboratorní diagnostiky

invazivních mykotických infekcí – doporučení odborníků s podporou *CELL* a SLM JEP

¹Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc., ²doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D., ³MUDr. Nad'a Mallátová,
⁴Mgr. Iva Kocmanová, ⁵MUDr. Vanda Chrenková, ⁶MUDr. Markéta Roubalová,
⁷MUDr. Petra Olišarová

¹Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Hradec Králové, Ústav klinické mikrobiologie

²Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice, Ústav mikrobiologie

³Nemocnice České Budějovice, a. s., Centrální laboratoře, Laboratoř lékařské parazitologie a mykologie

⁴Fakultní nemocnice Brno, Oddělení klinické mikrobiologie

⁵Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole, Ústav lékařské mikrobiologie

⁶Institut klinické a experimentální medicíny, Pracoviště laboratorních metod

⁷Všeobecná fakultní nemocnice, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

Souhrn

V posledních letech významně stoupá počet invazivních mykóz v důsledku narůstajícího počtu rizikových pacientů. Zároveň se rozšiřuje spektrum jejich původců, neřídka se sníženou citlivostí k antimykotikům. Důsledkem je častější selhávání léčby a vysoká mortalita. Klíčovou roli v úspěšném zvládnutí život ohrožujících mykóz tak stále více přebírá přesná a včasná diagnóza. Mykologická laboratoř musí disponovat základním vybavením a škálou metod, které umožňují jak rychlou diagnostiku, tak spolehlivou identifikaci na druhové (*Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*) nebo alespoň rodové (např. *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*) úrovni. Významné místo zastává zkušený a pravidelně se vzdělávající personál.

Klíčová slova

**invazivní mykózy • laboratorní diagnostika •
imunosuprimovaní pacienti • minimální požadavky**

Summary

Buchta, V., Hamal, P., Mallátová, N., Kocmanová, I., Chrenková, V., Roubalová, M., Olišarová, P.

There are increasing numbers of invasive fungal infections due to a growing number of high-risk patients and expanding spectrum of pathogenic fungi. Due to their reduced susceptibility to antifungals, treatment failure is more frequent and mortality increased in the patients. Thus, accurate and early diagnosis is increasingly taking key position in the management of life-threatening fungal infections. Mycological laboratory must have basic equipment and dispose of a spectrum of methods, which allows both fast diagnostics, and reliable identification at the species (*Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*) or, at least, generic level (e.g., *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*). Last but not least,

experienced and permanently educating staff represent an indispensable part of mycology diagnostics.

Keywords

**invasive mycoses • laboratory diagnostics •
immunocompromised patients • minimum requirements**

Pokrok v jednotlivých medicínských oborech, zavádění stále náročnějších a v řadě případů pacienty zatěžujících diagnostických a léčebných postupů způsobily výrazné změny v epidemiologii mnoha infekčních onemocnění. Trendy se projevují zejména ve změnách etiologie a klinické formy infekcí či rezistence mikrobů k antibiotikům, tyto potom významně ovlivňují celkovou morbiditu a mortalitu infekčních nemocí. To je i případ houbových onemocnění a mykologie, která ještě v 60. letech minulého století byla obořem, který se zabýval převážně kožními infekcemi (dermatofytózy), slizničními kandidózami a ve vymezených regionech také endemickými a subkutánními mykózami. Současné změny ve spektru hub a klinických forem houbových infekcí představují výzvu nejen pro lékaře a farmaceuty, ale také pro mikrobiology, kteří se podílejí na diagnostice mykotických agens. S výše uvedenými trendy a vývojem se logicky mění nebo doplňují i požadavky na vybavení a metodologii mykologické laboratoře a odbornou erudici a vzdělávání jejich pracovníků. Klíčovým požadavkem se stává rychlost a přesnost diagnózy, která zejména u imunoalterovaných pacientů je rozhodujícím faktorem úspěšnosti terapie.

Základní požadavky na mykologickou laboratoř

Požadavky na personální i technické vybavení se odvozují zejména od spektra výkonů a houbových agens pravidelně izo-

lovaných v dané laboratoři. Obojí významně ovlivňuje struktura pacientů daného nemocničního zařízení či spádu, zejména pokud se jedná o imunosuprimované osoby (transplantace, onkologičtí pacienti) a pacienty na jednotkách intenzivní péče.

PROSTOROVÉ A TECHNICKÉ VYBAVENÍ

Mykologická laboratoř je buď samostatná, nebo bývá součástí bakteriologického oddělení. Požadavky v základní vybavenosti se neliší od bakteriologické laboratoře, přičemž je však nutné zohlednit určitá specifika zpracování biologického materiálu, kultivace a identifikace hub. (Tab. 1).

Speciální požadavky na mykologickou laboratoř

Invazivní mykózy jsou v našich podmínkách vyvolávány oportunními houbami, jako jsou kvasinky rodu *Candida* a vláknité houby rodu *Aspergillus*, které napadají jen výrazně oslabené jedince a průběh těchto onemocnění je velmi závažný se špatnou prognózou. Proto je detekce houbových agens životně důležitá pro diferenciálnědiagnostickou rozvahu a rozhodování o způsobu

bu terapie. Navzdory pokročilé metodologii je stále více spojena s nejednoznačnou interpretací. To vyžaduje nejen hluboké znalosti a povědomí o houbových infekcích a jejich původcích, ale také klinický přesah – posouzení rizikových a predispozičních faktorů. V neposlední řadě i schopnost vést věcný dialog s ošetřujícím lékařem, protože jistota správného výsledku a závěru je obvykle jen relativní.

Hlavními požadavky na laboratorní diagnostiku invazivních mykóz jsou:

- detekce houby (s důrazem na citlivost metody),
- identifikace houby (s důrazem na přesnost a citlivost metody),
- rychlost a spolehlivost diagnostických procedur.

Diagnostické minimum mykologické laboratoře

MIKROSKOPIE

Východiska

Mikroskopie je v mykologii nepostradatelná technika, která slouží nejen k rychlé diagnostice, ale rovněž k ověření validity vzorku a přítomnosti zánětu. Uplatňuje se jako:

Tab. 1 – Požadavky na technické a přístrojové vybavení mykologické laboratoře*	
Minimální	Poznámka
Biohazard box BSL2	– práce s infekčním materiálem a houbovými kulturami (kvasinky, dermatofyty, aspergily) – v případě manipulace s dimorfní houbou <i>Coccidioides immitis</i> je doporučována BSL3
mikroskop – objektivy 10x, 20x, 40x, 100x	– detekce a identifikace kvasinek a vláknitých hub – standardizace inokula (viz níže)
termostat na 25 ± 1 °C	– kultivace dermatofytů, některých kvasinek a vláknitých hub
termostat na 36 ± 1 °C	– kultivace termofilních kvasinek (většina patogenních kandid), aspergillů a zygomycet; – inkubace u testů citlivosti na antimykotika
termostat na 30 ± 1 °C	– inkubace auxanogramů a některých identifikačních souprav (např. ID 32 C)
automatizovaný hemokultivační systém**	– pro kultivaci krve na kvasinky a vláknité houby (aerobní nebo speciální lahvičky)
chladnička (2–8 °C) infekční	– pro skladování a uchovávání houbových kultur a suspenzí
chladnička (2–8 °C) čistá	– pro skladování mykologických médií, diagnostických souprav
třepačka	– homogenizace suspenzí, biologických materiálů
promývačka a spektrofotometr	– ke stanovení specifických antigenů (např. galaktomanan) a protilátek (např. metoda ELISA)
zařízení na standardizaci velikosti inokula	– Bürkerova či jiná komůrka – turbidimetr/spektrofotometr
automatické pipety	– inkulace destiček (testy citlivosti, imunologické testy)
centrifuga	– zpracování biologických materiálů – oddělení séra
běžné laboratorní pomůcky	– bakteriologické klíčky a jehly, kahany, skalpel, pinzeta, zkumavky s víčky, špičky, atd.
Doporučené	Poznámka
termostat	– na specifickou teplotu potřebnou pro daný účel/test, včetně specifické teploty pro jednotlivé diagnostické soupravy
identifikační automaty	– přesná identifikace většiny běžných i méně frekventovaných patogenů
hlubokomrazicí box na -70 °C	– uchovávání biologických materiálů a houbových kmenů
mikroskop – fluorescenční	– detekce kvasinek, vláknitých hub a <i>Pneumocystis jiroveci</i>
vybavení pro izolaci DNA a PCR (termocykler, detekční systém atd.)	– konfirmace diagnostiky <i>Pneumocystis jiroveci</i> – detekce, identifikace a/nebo typizace kvasinek a vláknitých hub
* řada z uvedených položek může být sdílena s jinými mikrobiologickými, imunologickými, příp. biochemickými laboratořemi	
** v menších laboratořích, kde se pravidelně hemokultivace neprovádí, lze akceptovat alternativní způsoby kultivačního vyšetření krve	

Tab. 2 – Spektrum houbových infekcí a etiologie komplexní mykologické laboratoře*

Mykologická laboratoř	
Kandidóza <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> , aj. – orofaryngeální – vulvovaginální – kandidémie, sepse – endokarditidy	– tendence vyššího zastoupení druhů non- <i>albicans</i> kandid – onkologičtí pacienti, AIDS pacienti, novorozenci – včetně chronických forem – JIP pacienti, neutropeničtí pacienti – kardiochirurgičtí pacienti
Aspergilóza – invazivní, plicní <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> aj.	– imunosuprimovaní pacienti (steroidy, hemoblastózy), zvláště po transplantaci
Okulomykózy <i>Candida</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Aspergillus</i>	– trauma (úraz, operace) – diseminovaná infekce
Pneumocystóza <i>Pneumocystis jiroveci</i>	– AIDS pacienti, imunoalterovaní pacienti, novorozenci
Kryptokokóza – meningeální <i>Cryptococcus neoformans</i>	– AIDS pacienti, imunoalterace (lymfomy, CD4+ lymfocytopenie)
Zygomycóza – invazivní <i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Absidia</i>	– imunoalterovaní pacienti, diabetici s ketoacidózou, nedonošení novorozenci
Endemické mykózy <i>Histoplasma</i> , <i>Blastomyces</i> , aj.	– AIDS pacienti, imunoalterace – v ČR importované mykózy
* významně zastoupení hospitalizovaní pacienti se systémovými predispozicemi a rizikovými faktory (transplantace, invazivní zákroky, imunosupresivní terapie atd.)	

Tab. 3 – Doba potřebná na izolaci a identifikaci patogenních hub

Houba	Izolace	Identifikace
<i>Aspergillus</i> spp.	2–4 d	1–4 d
<i>Candida albicans</i>	1–3 d	1–2 d
<i>Candida</i> spp.*	1–4 d	1–5 d
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1–4 d	1–4 d
<i>Cryptococcus neoformans</i>	2–4 d	2–5 d
<i>Malassezia</i> spp.	3–5 d	3–5 d
<i>Geotrichum</i> spp., <i>Trichosporon</i> spp.	3–5 d	2–5 d
Zygomycety	3–5 d	7–14 d
Dermatofyta	5–14 d	7–30 d
Dimorfní houby	4–14 d	7–56 d

* *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* atd.

- Přímá metoda k rychlému a předběžnému určení možné houbové etiologie v biologickém materiálu včetně bioptických a nekroptických vzorků. V případě podezření na invazivní mykózu se v praxi osvědčuje zejména při vyšetření respiračních vzorků (detekce vláknitých hub a pneumocysty) a likvoru (opouzdřené buňky kryptokoků). U predisponovaných pacientů je vhodné mikroskopickému vyšetření podrobit všechny relevantní materiály, zvláště z primárně sterilních lokalit.
- K posouzení validity vzorku, zejména pokud jde o přítomnost (kolonizaci, kontaminaci) přirozené mikrobioty a zánětlivých buněk (leukocyty).
- K identifikaci vláknitých hub a částečně kvasinek. Přímé pozorování morfologických struktur hub *in situ* u mikrokultur a různých preparátů.

Mykologické minimum

Světelný mikroskop vybavený suchými (10x, 20x a 40x) a imersním objektivem (100x).

Doporučené techniky:

Nativní/louhový preparát – vzorky kůže a kožních adnex, vaginální sekret

Barvený nativní/louhový preparát (Lugolův roztok, Myco-Ink)

Gramovo barvení

Gram-Weigertovo barvení – alternativní průkaz cyst *Pneumocystis jiroveci**

Negativní znázornění pouzder čínskou tuší – mikroskopické vyšetření likvoru na kryptokoky

Giemsovo barvení – základní technika pro mikroskopický průkaz *Pneumocystis jiroveci** (trofozoity) a dimorfních hub (*Histoplasma*)

Barvení podle Grocotta – mikroskopický průkaz *Pneumocystis jiroveci** (cysty)

* mikroskopie je často falešně negativní (citlivost < 75 %), proto jako primární metoda detekce není spolehlivá a je nutná confirmace PCR

Doporučení

Citlivost nativní mikroskopie lze zvýšit používáním fluorescenčních barviv (Calcofluor, Blankophor, Rylux BSU), vyžadujících fluorescenční mikroskop.

KULTIVACE

Východiska

Kultivace hub, zvláště hemokultivace, je základní mikrobiologickou technikou používanou k detekci, izolaci a identifikaci původců invazivních mykóz a stanovení citlivosti k antimykotikům. Tzv. sklíčkové kultury (mikrokultury) představují metodu volby při

Tab. 4 – Minimální požadavek na druhovou a rodovou identifikaci patogenních hub v mykologické laboratoři

<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>A. flavus</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>A. niger</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>A. terreus</i>
<i>C. krusei</i>	<i>Acremonium</i> spp.
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Fusarium</i> spp.
<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Paecilomyces</i> spp.
<i>G. capitatum</i> (syn. <i>Blastoschizomyces capitatus</i>)	<i>Scedosporium</i> spp.
<i>Malassezia</i> spp.	<i>Scopulariopsis</i> spp.
<i>Rhodotorula</i> spp.	zygomycety: <i>Absidia</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp.
<i>Trichosporon asahii</i>	dermatofyta*
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Pneumocystis jiroveci</i>

* normou je identifikace rodu a v ČR nejfrekventovanějších druhů: *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*

pozorování mikroskopických struktur patogenních hub *in situ* v čase.

Délka inkubace u většiny kvasinek je několik dnů, u většiny vláknitých hub, způsobujících systémové mykózy, mezi třemi až deseti dny. V případě vláknitých mikromycet je kritériem dostatečného nárůstu a zároveň základní podmínkou jejich identifikace sporulace. Doba potřebná na kultivaci je ve většině případů výrazně kratší než vlastní identifikace kmene (Tab. 3).

Mykologické minimum

Mykologické půdy

- Sabouraudův agar
- + Sabouraudův agar ± antibiotikum nebo chromogenní médium
- ± Sabouraudův bujón

Pozn.: Použití chromogenního agaru pro primokultivaci je dáno spíše finančními možnostmi; přidání bujónu je silně doporučeno u relevantních materiálů, kde očekáváme malé množství houby nebo ztížený záchyt daný např. pomalým růstem nebo sníženou viabilitou, včetně souvislosti a přítomností antimykotika.

Teplota inkubace

- 36 ± 1 °C většina původců oportunních mykóz (kandidy, aspergily, zygomycety)
- + pokojová (cca 25 °C) pokud je žádoucí, při podezření na dimorfní houbu je nutná souběžná kultivace 25 a 37 °C
- ± jiná, podle potřeby, např. 30 °C u identifikačních souprav, např. ID 32 C nebo auxanogramů vlastní výroby

Délka kultivace

- minimálně 7 dnů u materiálů poslaných k mykologickému vyšetření, v případě možného záchytu dimorfních hub a dermatofyt minimálně 3 týdny
- minimálně 3 až 5 dnů u materiálů s požadavkem na mykologický monitoring (např. u hematologických pacientů)

IMUNOLOGICKÉ METODY

Východiska

Průkaz protilátek má v mykologii jen omezené uplatnění, protože není spolehlivý nebo jsou k dispozici jiné, vhodnější metody. V praxi se používá zejména v diagnostice alergických forem

mykotických infekcí (astma, alergická bronchopulmonální aspergilóza, aspergilom) a endemických mykóz. V diagnostice invazivních mykóz mají hlavní uplatnění metody, detekující specifické komponenty buněčné stěny hub. Laboratoře, které zpracovávají biologický materiál odebraný od imunosuprimovaných pacientů, zejména transplantovaných, by měly být schopny diagnostikovat invazivní aspergilózu a kryptokokovou meningitidu.

Mykologické minimum

- Detekce a stanovení aspergilového galaktomannanu (metoda ELISA) – kritérium v diagnostice invazivní aspergilózy
- Detekce kapsulárního glukuronoxylomananu (latexová aglutinace) – diagnostika kryptokokové meningitidy

Pozn.: Lze akceptovat smluvně vázanou spolupráci s jiným pracovištěm, které tato vyšetření provádí za podmínek splňujících základní požadavky na preanalytickou fázi, transport materiálu a odborně kompetentní osobu interpretující výsledky.

Doporučení:

- Detekce panfungálního beta-glukanu, která je však rodově nespecifická (např. kandidóza, aspergilóza, pneumocystóza) a neprokáže kryptokokózu a zygomycózu.
- Detekce kandidového mananu v kombinaci se stanovením antimananových protilátek v diagnostice invazivní kandidózy.
- Imunohistochemické barvení na aspergily lze využít v případě negativního kultivačního nálezu pro diskriminaci aspergilózy od ostatních hyalohyfofomóz.
- Imunohistochemické barvení na pneumocystu lze použít jako alternativní metodu detekce pneumocystózy, ale doporučuje se konfirmace PCR.

MOLEKULÁRNĚBIOLOGICKÉ METODY

Mezi molekulárněbiologické metody lze zahrnout techniky analyzující mikrobiální genom pomocí PCR (polymerázová řetězová reakce), FISH (fluorescenční hybridizace *in situ*), NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification), případně proteom pomocí hmotové spektrometrické analýzy proteinových map (MALDI-TOF – Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight). Všechny lze využít k detekci hub, zejména v přirozeně sterilních materiálech, monitorování terapie (např. u aspergilózy), ale především k identifikaci a typizaci houbových kmenů. Jsou vhodné jako doplněk ostatních testů a i přes kolísavou specifickou a senzitivitu se lze u většiny z nich spolehnout na negativní prediktivní hodnotu a využít ji v rámci diferenciativní diagnostiky.

Molekulárněbiologické metody lze považovat za doplňující součást diagnostického armentária mykologických metod, v případě *Pneumocystis jiroveci* je PCR konfirmační metodou.

METODY IDENTIFIKACE HUB

Východiska

Zvláště u imunoalterovaných a jinak kriticky nemocných se stále častěji uplatňují v etiologii invazivních mykóz méně obvyklé a nové druhy hub. Tyto houby se často vyznačují sníženou citlivostí k řadě antimykotik. Výsledkem je požadavek na přesnější a rychlejší laboratorní diagnostiku patogenních hub (Tab. 4).

U relevantních izolátů z materiálů od pacientů s pravděpodobnou/prokázanou invazivní mykotickou infekcí se doporučuje identifikace nebo potvrzení identifikace pomocí molekulárněbiologických metod (PCR, MALDI TOF).

Testování citlivosti na antimykotika prodlužuje vydání konečného výsledku řádově o dny, proto se identifikace, zejména u vysoce rizikových skupin pacientů, stává pravidelně podkladem tzv. etiologické léčby, což jen umocňuje její význam.

Identifikační metody můžeme hrubě rozdělit na předběžné, rychlé (s relativně menší spolehlivostí výsledků), a na specifické, podrobné, které mají vysokou míru přesnosti a spolehlivosti. Většina rychlých testů se soustřeďuje na nejfrekventovanější

houbová agens izolovaná v mykologických laboratořích – kandidy (Tab. 5).

Mykologické minimum

Literatura

CAMPBELL, CK., DAVEY, KG., HOLMES, AD., SZEKELY, A., WARNOCK, DW. Comparison of the API Candida system with the AUXACOLOR system for identification of common yeast pathogens. J Clin Microbiol, 1999, 37, p. 821–823.

ELLEPOLA, AN., MORRISON, CJ. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. J Microbiol, 2005, 43, p. 65–84.

GÜNDEŞ, SG., GULENC, S., BINGOL, R. Comparative performance of Fungichrom I, Candifast and API 20C Aux systems in the identification of clinically significant yeasts. J Med Microbiol, 2001, 50, p. 1105–1110.

Tab. 5 – Identifikace potenciálně patogenních hub pro člověka

Rychlá identifikace <i>Candida albicans</i>		
Minimum	Alternativa	Komentář
chromogenní půdy I. generace	test klíčních hyf v séru indukce chlamydospor	– rychlý test pro identifikaci v běžných materiálech – nutná vnitřní kontrola pomocí referenčního kmene – v případě izolátů s potvrzenou invazivní kandidózou doporučena konfirmace identifikační soupravou – doporučeno rozlišení <i>C. dubliniensis</i> (silně doporučeny sérologické, příp. genetické testy; další testy, např. zbarvení kolonie, množství chlamydospor, růst při 42 °C atd. nejsou příliš spolehlivé) – indukce chlamydospor, pomalá (48 h)
Rychlá identifikace non- <i>albicans</i> kandií		
chromogenní půdy II. generace		– rychlý test pro identifikaci v běžných materiálech, včetně kolonizujících kmenů či suspektních kontaminantů – chromagar spolehlivě identifikuje <i>C. albicans</i> / <i>C. dubliniensis</i> , ve většině případů i <i>C. krusei</i> a <i>C. tropicalis</i> , s menší spolehlivostí <i>C. glabrata</i> , nutná vnitřní kontrola pomocí referenčních kmenů – za všech závažnějších okolností doporučena konfirmace identifikační soupravou
Podrobná identifikace <i>Candida</i> spp.		
identifikační souprava	Auxanogram Zymogram	– API 20 C AUX, ID 32 C, Vitek 2 YST, atd. metody validované v renomovaném odborném písemnictví – doporučeno u izolátů z relevantních materiálů (krev, likvor apod.), popř. u kvantitativně masivního nálezu s odpovídajícím klinickým obrazem – nutná paralelní kultivace na rýžovém/kukuřičném agaru (morfologie) – doporučeny, zvláště u home-made auxanogramů, další testy (např. tvorba ureázy, hydrolýza žluči)
Podrobná identifikace ostatních kvasinek		
identifikační souprava	Auxanogram Zymogram	viz <i>Candida</i> spp. – doporučeny podle potřeby další testy (např. indukce sexuálních forem apod.) – v případě <i>Cryptococcus neoformans</i> průkaz pouzdra barvením (čínská tuš) nebo sérologicky (kap. Mykologické minimum)
Identifikace <i>Aspergillus</i> spp. a jiných vláknitých hub		
morfologický popis	PCR, MALDI TOF	– mikroskopický obraz v mikrokultuře /preparátu, zvláště tvar, velikost, textura, uspořádání konidií a konidiogenních buněk – makroskopický vzhled kolonií na Czapek-Dox (aspergily)/Sabouraudově (zygomycety) agaru, zvláště barva a textura povrchu – nález hyfových fragmentů v materiálu (typicky z respiračního traktu – BAL, sputum) je nespecifický (nelze vyloučit jinou vláknitou houbu) – vhodná spolupráce se smluvní laboratoří nebo se Sbírkou kultur vláknitých hub (Katedra botaniky, PŘF UK, Praha) – doporučeny referenční sbírkové kmeny hlavních zástupců vláknitých hub

- HUSAIN, S., CLANCY, C.J., NGUYEN, M.H., SWARTZENTRUBER, S., LEATHER, H., LEMONTE, A.M., DURKIN, M.M., KNOX, K.S., HAGE, C.A., BENTSEN, C., SINGH, N., WINGARD, JR, WHEAT, L.J. *Performance characteristics of the platelia Aspergillus enzyme immunoassay for detection of Aspergillus galactomannan antigen in bronchoalveolar lavage fluid.* Clin Vaccine Immunol, 2008, 15, p. 1760–1763.
- LENGEROVÁ, M., BOLEHOVSKÁ, R., HRNČÍŘOVÁ, K., ŽÁK, P., RÁČIL, Z., KOČMANOVÁ, I., MAYER, J. *Úloha PCR v diagnostice invazivní aspergillózy.* Postgraduální medicína, 2009, 15(S4), s. 43–47.
- MENNINK-KERSTEN, M.A., VERWEIJ, P.E. *Non-culture-based diagnostics for opportunistic fungi.* Infect Dis Clin North Am, 2006, 20, p. 711–727.
- MEYER, M.H., LETSCHER-BRU, V., JAULHAC, B., WALLER, J., CANDOLFI, E. *Comparison of Mycosis IC/F and plus Aerobic/F media for diagnosis of fungemia by the bactec 9240 system.* J Clin Microbiol, 2004, 42, p. 773–777.
- PFALLER, M.A., MCGINNIS, M.R. *The laboratory and clinical mycology.* In ANAÏSSIE, E.J., MCGINNIS, M.R., PFALLER M.A. (Eds), *Clinical Mycology (2nd edition).* Churchill Livingstone, Elsevier 2009, p. 55–77.
- PINCUS, D.H., ORENGA, S., CHATELLIER, S. *Yeast identification – past, present, and future methods.* Med Mycol, 2007, 45, p. 97–121.
- RÁČIL, Z., KOČMANOVÁ, I., WAGNEROVÁ, B., KŘEN, L., KŘIKAVOVÁ, L., MAYER, J. *Invazivní mykotické infekce u onkologických nemocných: změny v epidemiologii a diagnostice.* Postgraduální medicína, 2007, 9, s. 240–252.
- RAMANI, R., GROMADZKI, S., PINCUS, D.H., SALKIN, I.F., CHATURVEDI, V. *Efficacy of API 20C and ID 32C systems for identification of common and rare clinical yeast isolates.* J Clin Microbiol, 1998, 36, p. 3396–3398.
- SANGUINETTI, M., PORTA, R., SALI, M., La SORDA, M., PECORINI, G., FADDA, G., POSTERARO, B. *Evaluation of VITEK 2 and RapID yeast plus systems for yeast species identification: experience at a large clinical microbiology laboratory.* J Clin Microbiol, 2007, 45, p. 1343–1346.
- VERWEIJ, P.E., BREUKER, I.M., RIJS, A.J., MEIS, J.F. *Comparative study of seven commercial yeast identification systems.* J Clin Pathol, 1999, 52, p. 271–273.
- WHEAT, L.J., WALSH, T.J. *Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2008, 27, p. 245–251.
- WHITE, P.L., BRETAGNE, S., KLINGSPOR, L., MELCHERS, W.J., McCULLOCH, E., SCHULZ, B., FINNSTROM, N., MENGOLI, C., BARNES, R.A., DONNELLY, J.P., LOEFFLER, J. *European Aspergillus PCR Initiative. Aspergillus PCR: one step closer to standardization.* J Clin Microbiol, 2010, 48, p. 1231–1240.

e-mail: buchta@fnhk.cz