Univerzita Pardubice
Fakulta Chemicko-technologická

Pneumocystis jirovecii

Bakalářská práce

2023 Lenka Nováková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Lenka Nováková**
Osobní číslo:	**C20252**
Studijní program:	**B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor:	**Zdravotní laborant**
Téma práce:	***Pneumocystis jirovecii***
Téma práce anglicky:	***Pneumocystis jirovecii***
Zadávající katedra:	**Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat rešerši zaměřenou na *Pneumocystis jirovecii*.
2. Popsat onemocnění způsobená *Pneumocystis jirovecii*.
3. Shrnout laboratorní průkaz *Pneumocystis jirovecii* a citlivost na antibakteriální léčiva.
4. Vyhodnotit možnosti prevence a léčby.
5. Bakalářskou práci zpracovat v souladu se směrnicí č. 7/2019 univerzity Pardubice "Pravidla pro odevzdání, 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 vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Markéta Vydržalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

L.S.

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

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

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem *Pneumocystis jirovecii* 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 23.06.2023

Lenka Nováková

Chtěla bych poděkovat své vedoucí bakalářské práce RNDr. Markétě Vydržalové, Ph.D. za odborný dohled, pomoc a cenné rady při zpracovávání této bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá atypickým mikroorganismem *Pneumocystis jirovecii*, způsobující pneumonie u pacientů s oslabeným imunitním systémem. Věnuje se její charakteristice, onemocnění, laboratorní diagnostice a léčbě. Také poukazuje na různé rizikové skupiny a jak se v těchto případech dá onemocnění, které způsobuje zabránit.

KLÍČOVÁ SLOVA

Pneumocystis jirovecii, pneumonie, antibiotická léčba

TITTLE

Pneumocystis jirovecii

ANNOTATION

This bachelor's thesis focuses on atypical microorganism *Pneumocystis jirovecii* which causes pneumonia in patients with weak immune system. It's dedicated to characteristics, diseases, laboratory diagnostics and therapy of *Pneumocystis jirovecii*. Also points out different risk groups and how we can prevent development of the disease in these patients.

KEYWORDS

Pneumocystis jirovecii, pneumonia, antibiotic treatment

OBSAH

OBSAH 7
SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK 9
SEZNAM ZKRATEK 10
ÚVOD 11
1 HISTORIE 12
2 CHARAKTERISTIKA 13
2.1 Životní cyklus 13
2.2 Morfologie 14
2.3 Epidemiologie 15
2.4 Genetická diverzita 16
3 ONEMOCNĚNÍ 17
3.1 Rozdělení pneumocystové pneumonie dle závažnosti 17
3.2 Koinfekce 18
3.2.1 Cytomegalovirové infekce 18
3.2.2 Infekce virem Epsteina-Barrové 19
3.2.3 Infekce koronaviry 19
3.3 Rizikové skupiny 20
3.3.1 HIV pozitivní pacienti 20
3.3.2 Pacienti po transplantacích 20
3.4 Prognóza 20
4 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA 22
4.1 Vzorky 22
4.1.1 Bronchoalveolární laváž 22
4.1.2 Plicní biopsie 22
4.1.3 Sérum 22
4.2 Barvící techniky 23

4.2.1 Stříbření dle Grocotta 23
4.2.2 Barvení Toluidinovou modří 24
4.2.3 Barvení dle Giemsy 25
4.2.4 Barvení dle Papanicolau 26
4.2.5 Imunofluorescenční barvení 26
4.3 Moderní diagnostické techniky 28
4.3.1 PCR 28
4.3.2 Průtoková cytometrie 28
5 LÉČBA 29
5.1 Antibiotika využívaná pro léčbu 29
5.1.1 Trimetoprim a sulfametoxazol 29
5.1.2 Dapson 30
5.1.3 Echiokandiny 30
5.2 Antibiotická rezistence 31
5.3 Prevence 31
5.3.1 HIV pozitivní pacienti 31
5.3.2 Pacienti po transplantacích orgánů 32
5.3.3 Hematologické malignity 33
6 ZÁVĚR 34
7 POUŽITÁ LITERATURA 35

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Životní cyklus 14
Obrázek 2 Nákres a mikroskopie životních forem 15
Obrázek 3 Grafické znázornění počtu případů pneumonií způsobených *Pneumocystis jirovecii* v Německu u HIV pozitivních a HIV negativních pacientů 16
Obrázek 4 Vzorek obarven dle GMS 24
Obrázek 5 Cysty obarvené toluidinovou modří 25
Obrázek 6 Cystická forma obarvena dle Giemsy 26
Obrázek 7 Přímá metoda imunofluorescence 27
Obrázek 8 Nepřímá metoda imunofluorescence 27
Obrázek 9 Graf rozložení vývoje *Pneumocystis jirovecii* pneumonie u pacientů po transplantaci v čase 33

Tabulka 1 Rozdělení pneumocystové pneumonie dle závažnosti 18

SEZNAM ZKRATEK

CMV	Cytomegalovirus
EBV	Epsteina-Bárrové virus
BAL	Bronchoalveolární laváž
BKV	Lidský polyomavirus typu I
BLB	Bronchoskopická plicní biopsie
GMS	Stříbření dle Grocotta
PCR	Polymerázová řetězová reakce
FSC	Detektor pro přímý rozptyl (forwad scatter)
SSC	Detektor pro boční rozptyl (side scatter)
TMP	Trimetoprim
SMX	Sulfamethoxazol
DHPS	Dihydropteroát syntáza

ÚVOD

Tato bakalářská práce je zaměřena na vypracování přehledu zabývající se charakteristikou *Pneumocystis jirovecii*. Dále se zabývá laboratorní diagnostikou a léčbou onemocnění, které tento mikroorganismus způsobuje.

Pneumocystis jirovecii je atypický houbovitý mikroorganismus, který postihuje plíce. Tento mikroorganismus je možné pozorovat i u zdravých pacientů, u kterých nevyvolává žádná onemocnění. U pacientů s oslabeným imunitním systémem způsobuje až život ohrožující pneumonie. Pacienti HIV pozitivní po transplantacích nebo s maligním onemocněním jsou pneumoniemi způsobenými *Pneumocystis jirovecii* ohroženi nejvíce. Mezi typické projevy patří horečky, dušnost a suchý kašel. Tyto symptomy jsou vysoce nespecifické a obecně provázejí pneumonie i jiné etiologie.

Tato fascinující forma života je unikátní svým životním cyklem. Z morfologického pohledu se tento mikroorganismus vyskytuje ve dvou formách. Těmi jsou formy cystické a trofické. Obě tyto formy jsou důležité pro šíření a reprodukci tohoto mikroorganismu. Právě díky unikátnosti životního cyklu byla *Pneumocystis jirovecii* v minulosti zařazena jako morfologická forma *Trypasoma cruzi* a později i mezi prvoky. K zařazení mezi houbovité mikroorganismy došlo v pozdějších letech po podrobném prozkoumání.

1 HISTORIE

Jedna z prvních zmínek o *Pneumocystis jirovecii* sahá až do roku 1909. Tenkrát ji Carlos Changas zaměnil za morfologickou formu *Trypasoma cruzi*, kterou v té době studoval. Později bylo zjištěno, že tomu tak není a byla označena jako samostatný druh. Vzhledem k morfologickým podobnostem *Pneumocystis jirovecii* s prvoky byl tento druh řazen k prvokům s označením *Pneumocystis carinii* [1].

V následujících letech byly zaznamenány případy, kdy nález v histologickém preparátu z plic odpovídal *Pneumocystis carinii*. V roce 1942 vypukla epidemie pneumonií neznámé etiologie u předčasně narozených dětí ve střední Evropě. Souvislost těchto pneumonií a *Pneumocystis carinii* dokázaly až československí parazitologové Otto Jírovec a Josef Vaněk. Ti v roce 1952 prováděli pitevní studie na dětech, které na tyto pneumonie zemřely [2].

V roce 1988 byly provedeny DNA analýzy, které ukázaly, že se nejedná o prvoka, ale o houbu. Přes řadu podobností se však stále jedná o atypickou houbu. Jeden z rozdílů je ve složení membrány [3].

V roce 1953 získal Otto Jírovec ocenění za prokázání korelace tehdy *Pneumocystis carinii* jako původce pneumonií novorozenců. Vzhledem k jeho příspěvkům ve výzkumu, bylo rozhodnuto roku 1999 o změně jména na *Pneumocystis jirovecii*. Pojmenováním mikroorganismu byla uznaná jeho přínosná práce ve výzkumu [4] [5].

2 CHARAKTERISTIKA

Pneumocystis jirovecii je mikroorganismus houbového původu. U pacientů s oslabenou imunitou způsobenou léčbou či onemocněním jako je AIDS, způsobuje život ohrožující pneumonie [1] [6].

2.1 Životní cyklus

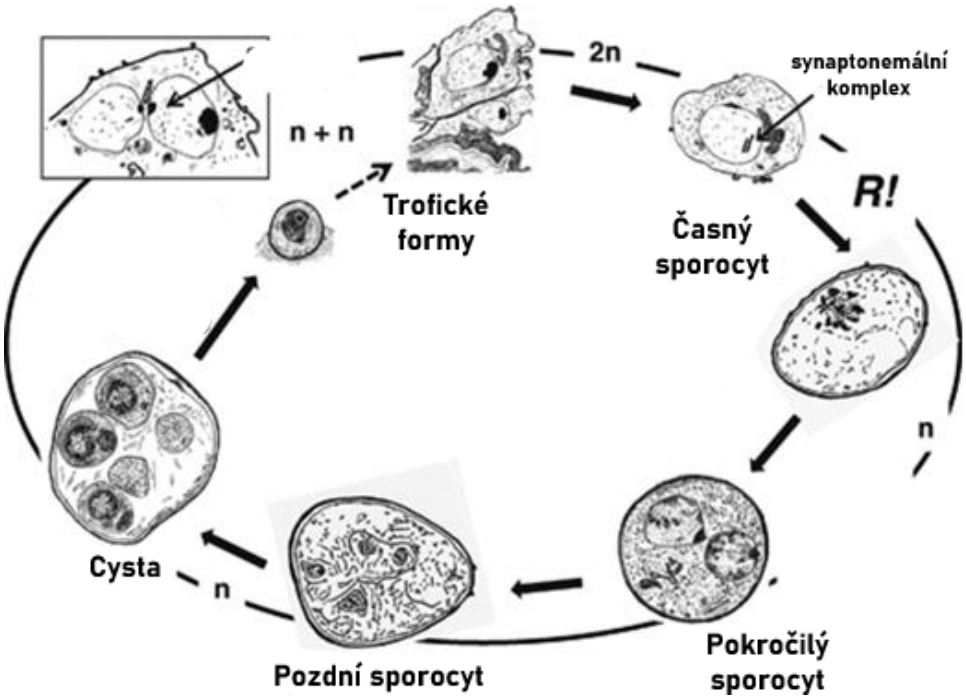
Jak již bylo zmíněno, v minulosti došlo k překlasifikováni *Pneumocystis jirovecii* z prvoka na houbu. K této záměně došlo hlavně z důvodů jejího životního cyklu (Obrázek 1), který má 2 formy: cystická forma a trofická forma [6].

Přenos *Pneumocystis jirovecii* byl studován na myších. Ty byly postupně vystaveny různým typům infekčního vehikula – vzduch, voda či kontaminovaná potrava. Z tohoto experimentu vyplynula jednoznačná odpověď. *Pneumocystis jirovecii* je přenášena pouze aerogenně. V následujících studiích bylo zjištěno, že pouze cystická forma je schopna přenosu. Trofická forma tedy nedokáže nakazit zdravého jedince [7].

Pro přenos hraje vzdálenost velice důležitou roli. Například ve vzdálenosti 1 metru od pacienta je pravděpodobnost zachycení DNA *Pneumocystis jirovecii* až 79,8 %. Ve vzdálenosti 5 metrů od pacienta byla zachycena DNA u 41,7 % a po 8 metrech došlo k záchytu u 33,3 % z celkového množství nakažených pacientů. Přenos *Pneumocystis jirovecii* není možný mimo prostory s nakaženými pacienty [8].

Ke kolonizaci organismu dochází v plicích. Po vdechnutí se cystická forma dostává do plic. Zde buňka praskne a vypustí askospory, ze kterých následně vznikají trofické formy (2n). Tyto formy se přichytí k buňkám alveolárního epitelu, kde započne vývoj do formy časného sporocytu. V tuto chvíli je indikován synaptonemální komplex a dochází k meiotickému dělení, které vede ke vzniku formy pokročilého sporocytu [9].

Pokročilý sporocyt vytváří v buňce 8 haploidních spor (n). Tento proces funguje na základě mitózy a po dokončení dochází ke vzniku zralé cysty. Takto se celý životní cyklus uzavírá [9]. Cystická forma může být pacientem vydechnuta a přenesena na dalšího pacienta [8].



Obrázek 1 Životní cyklus

(Upraveno [9])

Celý životní cyklus není zdaleka do hloubky prozkoumán vzhledem k problémům růstu organismu in vitro. Proto se stále jedná především o hypotézu [10].

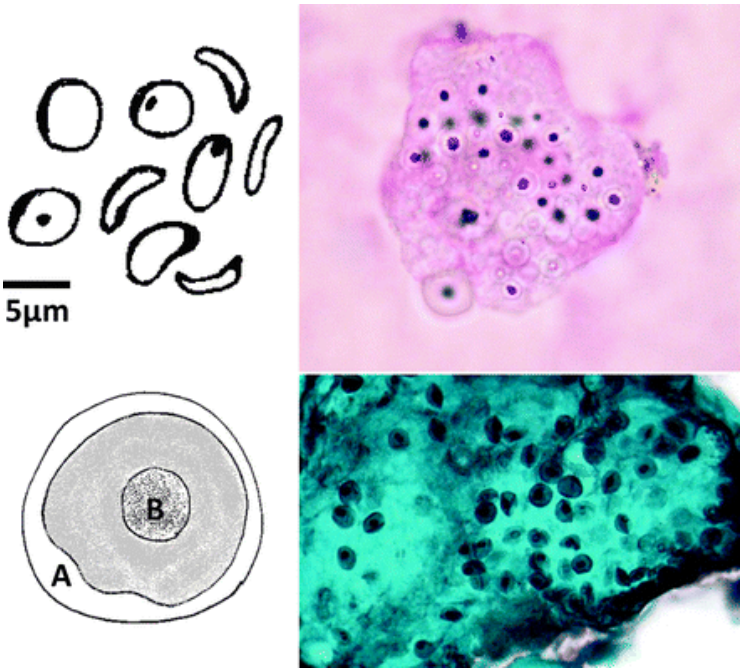
2.2 Morfologie

Pneumocystis jirovecii svojí morfologií připomíná kvasinky. Obě její morfologické formy je možné nalézt v plicích nemocného pacienta. Lze ji nalézt i u zdravích jedinců nicméně v tomto případě nevyvolává infekci [10] [11].

Trofickou i cystickou formu (Obrázek 2) je možné pozorovat pomocí barvících technik. Mezi ně patří stříbření dle Grogotta či barvení dle Giemsy. Trofické formy jsou Giemsy pozitivní a cystické formy jsou pozitivní při stříbření dle Grogotta [11].

Velikost trofické formy je v rozmezí 2-10 μm. Jednotlivé buňky mají jádro obklopené cytoplazmatickými organelami, mezi které patří mitochondrie, Golgiho aparát, vakuoly či endoplazmatické retikulum. Celou buňku uzavírá tenká a flexibilní buněčná membrána, na které se nacházejí výběžky. Ty buňka využívá pro přilnutí k buňkám či penetraci buněčné membrány. V plicích nakaženého pacienta se tyto buňky shlukují a připojují na pneumocyty I [10].

Cystická forma má kulatý tvar s rozměry 5 – 8 μm. Buňka obsahuje 8 intracystických částí, které reprezentují prekurzory trofických forem. Jedna intracystická část obsahuje všechny organely, které se v trofické formě nacházejí. Buněčná membrána je bohatá na velké množství beta-glukanů. V porovnání s trofickou formou má cystická forma až 5x silnější buněčnou membránu. Cystická forma navíc obsahuje tubulární rozšíření, které jsou připojeny na povrchu buněčné stěny hostitelské buňky [10].

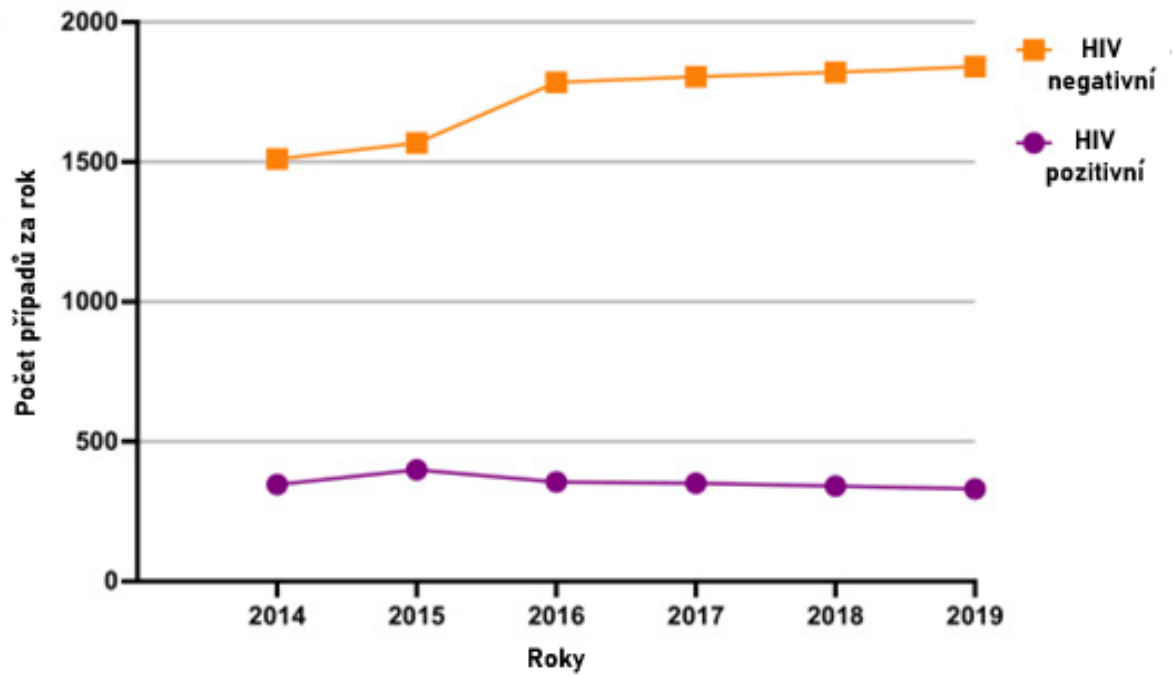


Obrázek 2 Nákres a mikroskopie životních forem

Vlevo nahoře nákres cyst *Pneumocystis jirovecii*, vpravo nahoře vzorek nabarven dle Papanicolau ukazující přítomnost cyst. Vlevo dole schéma cysty kde A je tlustá buněčná stěna a B je trofická forma, vpravo dole vzorek nabarven stříbřením dle Grocotta zobrazující cysty a trofické formy uvnitř [11].

2.3 Epidemiologie

Před 80. lety byly pneumonie způsobené *Pneumocystis jirovecii* vzácné. To se změnilo při nástupu AIDS epidemie, při které se tato pneumonie rozšířila mezi běžná onemocnění. Jeden z náznaků počátku epidemie HIV byly narůstající případy pneumonií u homosexuálních mužů a u drogově závislých pacientů. Během těchto počátků bylo až 20 případů ze 100 pneumonií u pacientů s nízkým počtem lymfocytů způsobeno *Pneumocystis jirovecii*. Od roku 1989 začalo docházet k poklesu výskytu těchto pneumonií [12].



Obrázek 3 Grafické znázornění počtu případů pneumonií způsobených *Pneumocystis jirovecii* v Německu u HIV pozitivních a HIV negativních pacientů

(Upraveno z [13])

Mezi lety 2014 až 2019 došlo ke studii incidence a úmrtí na pneumonie spojených s *Pneumocystis jirovecii* v Německu (Obrázek 3). V tomto období docházelo ke vzrůstu incidence až o 17 %. Ke vzrůstu však nedocházelo u HIV pozitivních pacientů, ale u pacientů s imunosupresivními onemocněními, mezi které patří onemocnění plic, malignity či revmatoidní onemocnění. S tímto trendem je spojená i úmrtnost. Ta v tomto období zaznamenala až 19% nárůst [13].

2.4 Genetická diverzita

Mezi druhem *Pneumocystis jirovecii* a ostatními druhy byl prokázán fenotypový rozdíl. V případě DNA analýz, které byly provedeny na *Pneumocystis* od různých hostitelů byly výsledky vždy rozdílné a projevující specifitu dle hostitelského organismu [1].

Například v případě *Pneumocystis carinii* bylo zjištěno, že se jedná o heterogenní skupinu. V tomto zjištění pomohly molekulární techniky. Jedna sekvence byla však nalezena ve vzorcích *Pneumocystis carinii* od různých savců. Sekvence mtLSU rRNA byla nalezena u člověka, králíka, myši, koně a dalších 5 druhů zvířat [7].

3 ONEMOCNĚNÍ

Pneumocystis jirovecii způsobuje pneumonie u pacientů s onemocněním AIDS a u pacientů s imunitními deficity. Mezi tyto deficity patří malignity, zánětlivá onemocnění, autoimunitní onemocnění či transplantace orgánů [14].

Pacient, který onemocněl pneumonií způsobenou *Pneumocystis jirovecii* a je HIV pozitivní, vykazuje triádu symptomů: námahová dušnost, suchý a neproduktivní kašel a horečka. Mezi další méně závažné příznaky patří i ztráta hmotnosti či kvasinkové infekce v dutině ústní. Tyto příznaky trvají dny až týdny. Přetrvání příznaků napomáhá v diferenciaci pneumonie způsobené bakteriemi nebo *Pneumocystis jirovecii* [15].

U HIV pozitivních pacientů vyvolává subakutní onemocnění. V těchto případech dochází k postupnému vyvíjení symptomů v rozmezí 25-28 dní. U pacientů s imunodeficitním onemocněním HIV negativních je průběh akutní a jejich stav se rapidně zhoršuje během 5-6 dnů. Často tedy dochází k selhání dýchacího systému a hypoxii. Pacient náhle potřebuje ventilační podporu dýchání pro udržení stálé koncentrace kyslíku v krvi [16] [17].

3.1 Rozdělení pneumocystové pneumonie dle závažnosti

Pro HIV pozitivní pacienty je zavedeno rozdělení závažnosti pneumonie *Pneumocystis jirovecii* (Tabulka 1). Podle tohoto rozdělení je možné plánovat léčbu. Rozdělení je kategorizováno na mírnou, středně těžkou a těžkou pneumonii. Léčba a délka se u středně těžké a těžké pneumonie prakticky neliší. U HIV negativních pacientů není klasifikace zavedena, ale bylo by možné pneumonie rozdělit na mírné a středně těžké až těžké [18].

Vzhledem k závažnosti a rychlosti *Pneumocystis jirovecii* pneumonií u HIV negativních pacientů, není žádoucí aby docházelo k jejímu podcenění. V případě klasifikace dle komunitní pneumonie (A-DROP či CURB-65) dochází ke špatným výsledkům léčby. Tyto klasifikační systémy často zařadily pacienty s *Pneumocystis jirovecii* pneumonií do mírné až středně těžké pneumonie. To přispělo k rozvinutí selhání dýchacího systému [19].

Tabulka 1 Rozdělení pneumocystové pneumonie dle závažnosti

	Symptomy	**Množství kyslíku v krvi**	**Radiografie hrudníku**
Mírná pneumonie	Dušnost při zvýšené námaze, bez kašle	>96%	Normální nebo minimální stíny
Středně těžká pneumonie	Dušnost při minimální námaze popřípadě bez námahy, teplota	91 – 96%	Difúzní intersticiální stíny
Těžká pneumonie	Dušnost při odpočinku, vytrvalá teplota, kašel	<91%	Velké množství intersticiálního stínování s nebo bez difuzního alveolárního stínování

(Přeloženo a převzato z [18])

3.2 Koinfekce

Pneumocystis jirovecii je náročné efektivně identifikovat. Samotnou prognózu onemocnění zhoršují smíšené infekce. Mezi nejčastější koinfekční patogeny patří cytomegalovirus (CMV), virus Epsteina-Barrové (EBV) a kvasinky rodu *Candida* [20].

3.2.1 Cytomegalovirové infekce

Cytomegalovirus (CMV) je virus, který může infikovat pacienty různých věkových skupin. Virus zůstává v pacientovi do konce života a může být za tuto dobu reaktivován. Ve většině případů jde o bezpříznakové onemocnění. Riziková skupina jsou pacienti s oslabeným imunitním systémem u kterých může dojít až k neurologickým komplikacím [21].

V malém vzorku pacientů byla sledována koinfekce *Pneumocystis jirovecii* a CMV. Z 52 pacientů *Pneumocystis jirovecii* mělo 14 z nich koinfekci s CMV. Tito pacienti měli virémii bez klinických projevů onemocnění nebo virémii s projevy onemocnění. K průkazu CMV byl použit vzorek bronchoalveolární laváže (BAL) [22].

Z laboratorního hlediska pacienti s oběma patogeny, měli nižší množství sérového albuminu a vyšší hodnoty CRP než pacienti pouze s *Pneumocystis jirovecii*. Z pohledu klinických příznaků docházelo u pacientů s koinfekcí k mnohem závažnějším pneumoniím. Přesný důvod k závažnějším pneumoniím není plně zjištěn, ale je pár možných teorií [22].

Infekce CMV potlačuje funkci antigen prezentujících buněk a pomocných T lymfocytů. Dochází tak k pozdějšímu nástupu příznaků *Pneumocystis jirovecii* a tím pádem i k vážnějšímu poškození plicního parenchymu. CMV také dokáže vyvolat supresi respiračního vzplanutí v makrofázích a tím pádem dojde k zhoršení imunitní obrany proti *Pneumocystis jirovecii*. V neposlední řadě dochází při reaktivaci CMV k potlačení imunity. Následující infekce tak mohou být mnohonásobně komplikovanější [22].

3.2.2 Infekce virem Epsteina-Barrové

Virus Epsteina-Barrové (EBV) je virus přenášející se tělními tekutinami. Ve většině případů dochází k asymptomatickému nosičství ale u dospělých a adolescentů může vyvolat infekční mononukleózu. V těle se naváže na B lymfocyty, které následně nejsou schopny imunitní reakce a dojde k vypuknutí symptomů. Léčba je symptomatická, při které je důležitý odpočinek a dostatečný příjem tekutin. Virus zůstává v těle do konce života v inaktivní formě [23].

Při současné infekci EBV a CMV dochází k otupení imunologické odpovědi. Následně dochází k přetrvávání infekce a tím se i prodlužuje délka hospitalizace [24].

3.2.3 Infekce koronaviry

Léčba onemocnění COVID-19 u hospitalizovaných pacientů, často zahrnuje mechanickou ventilaci plic. Tato léčba je ale i rizikovým faktorem pro invazivní plísňové infekce, mezi které patří i infekce *Pneumocystis jirovecii*. Již během první epidemie onemocnění SARS-Cov-1 docházelo ke konfekcím s jinými patogeny. K těm docházelo i během pandemie COVID-19 [25].

Z klinického hlediska se obě onemocnění podobně prezentují. Symptomy jako jsou suchý kašel ale i náročné dýchání při námaze jsou přítomny jak u infekce *Pneumocystis jirovecii* tak i u COVID-19. CT hrudníku také poukazuje na jejich podobnost. Léčba se však u těchto onemocnění liší [26].

V případě imunosuprese, lze se na tuto problematiku podívat ze dvou pohledů. Pacienti s COVID-19 mají díky slabší imunitní odpovědi i mírnější symptomy. Nedochází tak k přehnané imunitní odpovědi. Toto lze pozorovat u HIV pozitivních pacientů, u kterých je vzácná těžká forma tohoto onemocnění. Na druhou stranu jsou imunitní deficity jeden z hlavních rizikových faktorů u infekce *Pneumocystis jirovecii* [25].

3.3 Rizikové skupiny

Rizikovou skupinou ke vzniku pneumocystové pneumonie jsou imunosuprimovaní pacienti. Mezi tyto pacienty patří HIV pozitivní ale i pacienti HIV negativní. Těmi jsou pacienti po transplantaci orgánů, hematologických nádorech, solidních nádorech a dalším autoimunitním onemocněním, které vyžaduje kortikosteroidy či jinou léčbu oslabující imunitu [20].

3.3.1 HIV pozitivní pacienti

V případě HIV pozitivních pacientů je důležité sledovat množství CD4 buněk. Pokud množství těchto buněk klesne pod 200 buněk/mm^3, začíná být riziko pneumocystové pneumonie velké a je nutné začít řádnou prevenci [27].

Rizikové je také prostředí, ve kterém se HIV pozitivní pacient nachází. Bylo pozorováno že vyšší koncentrace NO_2, O_3 a CO v ovzduší byly rizikové pro samotnou hospitalizaci a mortalitu HIV pozitivních pacientů s *Pneumocystis jirovecii* pneumonií. Stejný účinek mělo i chladnější počasí, při kterém docházelo k častějším úmrtí [28].

3.3.2 Pacienti po transplantacích

Transplantace se jeví jako jedno z rizik infekce *Pneumocystis jirovecii*. Z historického hlediska se pneumonie *Pneumocystis jirovecii* projevila u 5-15 % pacientů po transplantaci orgánu. Vzhledem k dnešnímu využití prevence se četnost snížila až na 0,3-2,6% [29].

Pacienti mají z pohledu klinických faktorů lymfopenii, onemocnění související s CMV či lidským polyomavirem typu I (BKV). Riziko zvyšuje i podávaná léčba jako je rituximab či polyklonální protilátky. V neposlední řadě je rizikem odmítnutí transplantovaného štěpu [30].

CMV představuje jakýsi marker pro imunosuprimovaný stav a má i imunomodulační účinky. Ty dokáží spustit i samotné odmítnutí štěpu a tak zvýšit riziko pro ostatní oportunní infekce. BKV je považován za nepřímí marker pro imunitní supresi ale nebyla spojena přímo se samotnou infekcí [30].

3.4 Prognóza

Samotná prognóza se odvíjí od již existujících imunitních deficitů. Jedním z důležitých parametrů je i sekvenční hodnocení orgánového selhání (SOFA). Používá se pro zjištění jak orgány nemocného pracují popřípadě jak rychle selhávají. V případě vysockého SOFA skóre při přijetí pacienta a případné koinfekci, dochází k vysoké mortalitě pacientů [31].

HIV pozitivní pacienti často netrpí závažnou formou pneumocystové pneumonie ve srovnání s HIV negativními pacienty. To je dáno zvláštností imunosuprese, kterou vyvolává HIV a celkově větší zranitelností HIV negativních pacientů. Vysoká úmrtnost byla spojena i s vysokými hodnotami CRP a neutrofilů [31]. Obecně platí velmi špatná prognóza u HIV negativních pacientů [32].

4 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Pneumocystis jirovecii se při nákaze téměř vždy nachází v plicích. V začátcích diagnostiky byla především využívána biopsie plic pro získání velkého množství tkáně pro barvení a následnou identifikaci. Od té doby metody diagnostiky pokročily a biopsie byla nahrazena méně invazivními metodami [6].

4.1 Vzorky

Nejčastěji se používají vzorky získané z dýchací soustavy. Vzhledem k nemožnosti kultivace, se často využívá klinický materiál nebo jejich produkty. Nejčastěji se pro analýzu využívá bronchoalveolární laváž (BAL), popřípadě bronchoskopická plicní biopsie (BLB) [33].

4.1.1 Bronchoalveolární laváž

Minimálně invazivní vyšetření, při kterém je sterilní fyziologický roztok zaveden do bronchoalveolární části plic. Následně je tekutina odsáta a analyzována. Vyšetření je možné využít u infekčních onemocněních plic, ale může také pomoci při diagnostice různých neinfekčních onemocnění [34].

V posledním desetiletí se BAL využívá pro základní vyšetření *Pneumocystis jirovecii* nejčastěji. K detekci dochází ve více jak 90% případů. Na mnoha klinikách tak eliminoval nutnost biopsie plic. Jedním z problému je málo standardizovaných vzorkovacích technik. Pokud dojde k odebrání nedostatečně kvalitního vzorku, může dojít k nepřesnému výsledku a prodloužení doby diagnostiky [6] [33].

4.1.2 Plicní biopsie

Biopsie v posledních letech získala mnoho nových poznatků. Využívá se hlavně pro diagnostiku rakoviny plic ale je ji možné využít i pro *Pneumocystis jirovecii* .Celý zákrok je proveden při lokální anestezii, kdy se sprejem ošetří zadní část krku nebo je zavedeno intravenulární sedativum. Trubička s bronchoskopem je vedena nosem či ústy. Vede skrz hrtan do plic, kde je vzorek tkáně odebrán [35] [36].

4.1.3 Sérum

V roce 1990 bylo při analýze konvenční PCR zjištěno, že nedochází k dostatečně vysoké citlivosti při analýzách séra. V posledních letech se však ukazuje že technika real-time PCR poskytuje lepší výsledky. V některých případech může dojít k náročné interpretaci [37].

Součástí buněčné membrány *Pneumocystis jirovecii* je 1,3-β-D-glukan (betaglukan). Jde o polysacharid, který lze detekovat v séru nakažených pacientů a má velice dobré výsledky u HIV pozitivních pacientů. Jeho detekce je založena na síle enzymatické reakce pomocí diagnostických kitů. Citlivost této metody je v případě cut-off hodnoty 200 pg/ml nad 90% u HIV pozitivních pacientů [37].

4.2 Barvící techniky

Pro barvení vzorku BAL či tkáně získané biopsií plic, je možné využít hned několika barvících technik. Mezi ně patří stříbření dle Grocotta, barvení za pomocí Toluidinové modři či barvení dle Giemsa [38].

4.2.1 Stříbření dle Grocotta

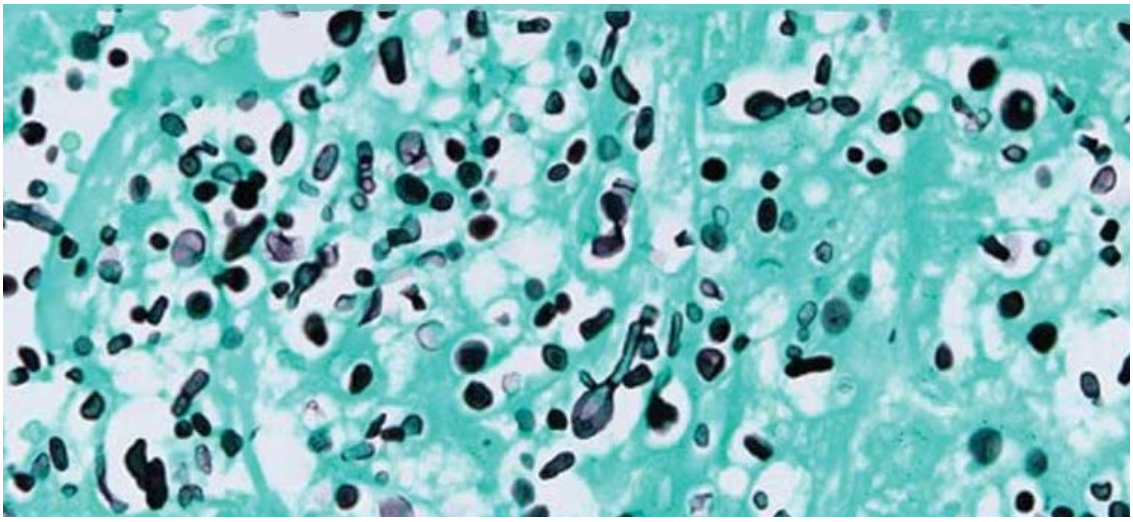
Stříbření dle Grocotta je jedna z nejúčinnějších barvících technik pro identifikaci *Pneumocystis jirovecii*. Využívá se také pro identifikaci plísňových mikroorganismů [38].

Princip je založen na složení buněčné stěny plísní, která je složena z polysacharidů. Při reakci s kyselým chromatinem dochází k oxidaci a vznikají aldehydy. To je možné pozorovat reakcí Grocottova zásaditého hexamino stříbrného roztoku, které se redukuje a vytváří černé zbarvení buněčné membrány [39]. Zbarvují se hlavně cysty a to jak živé tak i mrtvé [6].

Pro barvení existují 2 metody: metoda při laboratorní teplotě a mikrovlnná metoda. Metoda při laboratorní teplotě začíná hydratováním vzorku destilovanou vodou a následně je vzorek oxidován 4% vodnou kyselinou chromovou po dobu 1 hodiny. Sklíčko je opláchnuto vodou a převrstveno 1% metabisulfidem sodným na 1 minutu. Preparát je znovu opláchnut vodou a sklíčko je ponořeno do roztoku stříbra, které je předehřáto na 60°C po dobu 15 – 20 minut [39].

Z lázně je sklíčko vyjmuto v moment, kdy se vzorek zbarví na žluto-hnědou barvu. Po opláchnutí je na preparát aplikován chlorid zlata na 2 minuty a roztok je spláchnut vodou. Na sklíčko je následně aplikován 2% roztok thiosíranu sodného na 2 minuty. Sklíčko je ponecháno pod tekoucí vodou po dobu 5 minut. Na vzorek je aplikováno kontrastní barvivo, které je po 15 vteřinách spláchnuto ethanolem. Sklíčko je možné pozorovat po jeho zaschnutí [39].

V případě pozitivního nálezu, pozorujeme černé až tmavě hnědé kulaté buňky na zeleném pozadí tkáně (Obrázek 4) [40].



Obrázek 4 Vzorek obarven dle GMS
(Převzato z [39])

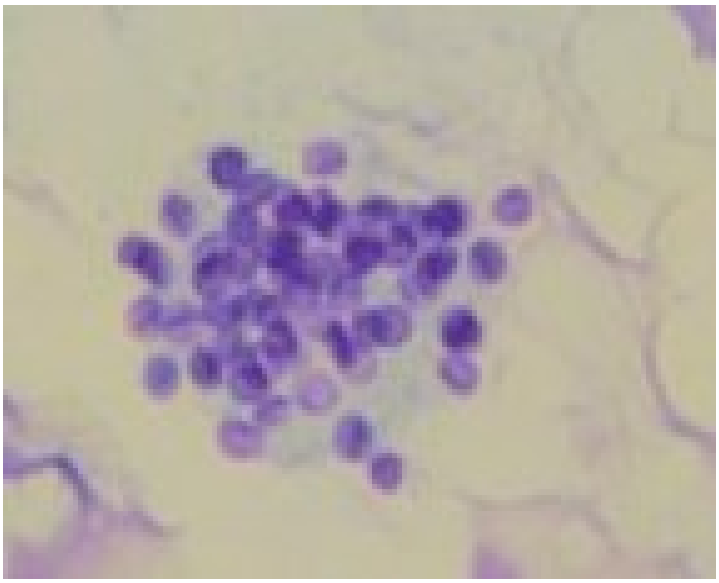
4.2.2 Barvení Toluidinovou modří

Toluidinová modř je acidofilní metalochromní barvivo. Díky acidofilnímu charakteru barví hlavně kyselé složky tkáně jako je DNA. Samotný princip je založen na metachromazii. Dochází k reakci barvy s tkání za vzniku jiného zbarvení tkáně, než byla barva původní. Jde o vysoce selektivní barvení, protože dojde k obarvení specifických struktur. Při barvení nedochází ke změně chemické struktury jelikož dochází k agregaci barvy. Pro agregaci je nutné, aby na povrchu tkání byly volné elektronegativní skupiny [41].

Existují 3 formy metachromatismu: alfa, beta a gama přičemž každá je přiřazena jiné barvě. Forma alfa je modrá a má monomerickou strukturu. Jde o negativnímu nález. Forma beta vytváří fialové zabarvení. Struktura je ve formě dimeru či trimeru a jde o reakci mírně pozitivní. Silně pozitivní je forma gama, která má strukturu polymerovou a barvu červenou [41].

Pro provedení barvení je nutné vzorek zafixovat. Toho je docíleno 10 % neutrálním formalinem. Na zafixovaný preparát je aplikována toluidinová modř na 1 – 2 minuty. Barva je opláchnuta destilovanou vodou a vzorek je následně dehydratován alkoholem [42].

Při pozorování je možné *Pneumocystis jirovecii* pozorovat jako modré buňky při zvětšení 400x (Obrázek 5) [43].



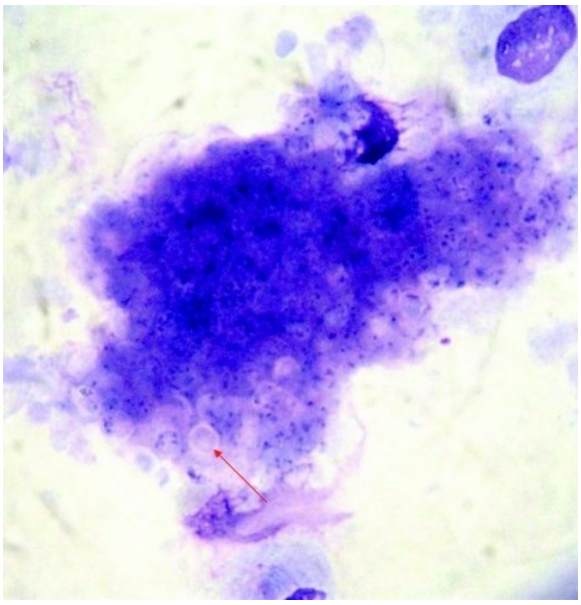
Obrázek 5 Cysty obarvené toluidinovou modří
(Převzato z [43])

4.2.3 Barvení dle Giemsy

Princip je založen na diferenciaci buněk. Jeho využití je hlavně v protozoologii pro znázornění prvoků, ale lze jej využít i v bakteriologii pro barvení intracelulárních parazitů nebo v mykologii. Barvení lze též využít při mikroskopickém vyšetření vaginálního sekretu [44].

Samotná barva obsahuje azur, methylenovou modř a eosin. Tyto barvy zajišťují barvení fosfátových skupin DNA. Azur a eosin jsou kyselé barvy, které obarví zásadité komponenty jako je cytoplasma či granula. Methylenová modř je zásaditým barvivem. Barví tedy kyselé komponenty, mezi které hlavně patří jádro buněk [44].

Preparát je nejdříve zafixován methanolem. Vzorek se nechá zaschnout a následně je sklíčko ponořeno do roztoku s Giemsovým barvivem. Dle koncentrace barviva se určuje doba barvení. V případě ředění 1:2 lze barvit preparát 30-60 minut. Pokud je barvivo naředěno 1:10 je nutné tuto dobu prodloužit na 12 – 24 hodin. Poté je barva spláchnuta destilovanou vodou a je možné po zaschnutí preparát pozorovat (Obrázek 6) [45].



Obrázek 6 Cystická forma obarvena dle Giemsy

Cystická forma je označena šipkou (Převzato z [46])

Pro pozorování *Pneumocystis jirovecii* je možné využít modifikovanou formu barvení, kdy se sklíčko ponoří do Giemsova roztoku vícekrát a roztok je střídán s roztokem eosinu. Tato metoda je vhodná pro země, kde není dostatek financí pro diagnostiku [46].

4.2.4 Barvení dle Papanicolau

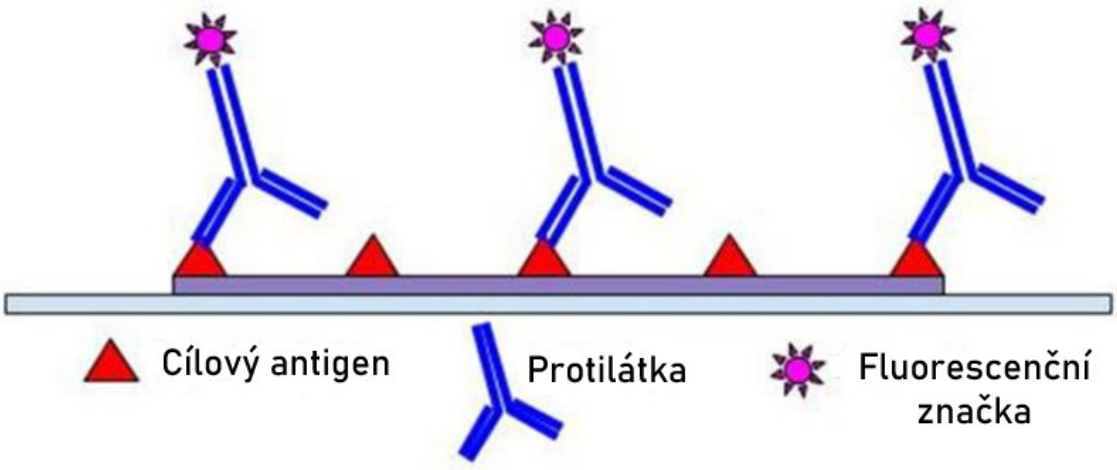
Jedno z barvení, které je možné použít je barvení dle Papanicolau. Používá se hlavně při histologickém a cytopatologickém vyšetření pro diferenciaci buněk. Jde o jednu z nejrozšířenějších metod pro screening rakoviny děložního čípku [47].

4.2.5 Imunofluorescenční barvení

Imunofluorescenční barvení je metoda imunochemická. Při této metodě dochází k detekci a lokalizaci antigenů na stěně buňky. Detekci napomáhá reakce antigenu s protilátkou, která je označena fluorescenční značkou. Metoda má vysokou citlivost oproti jiným mikroskopickým technikám. Je možné využít metodu přímou a nepřímou [48].

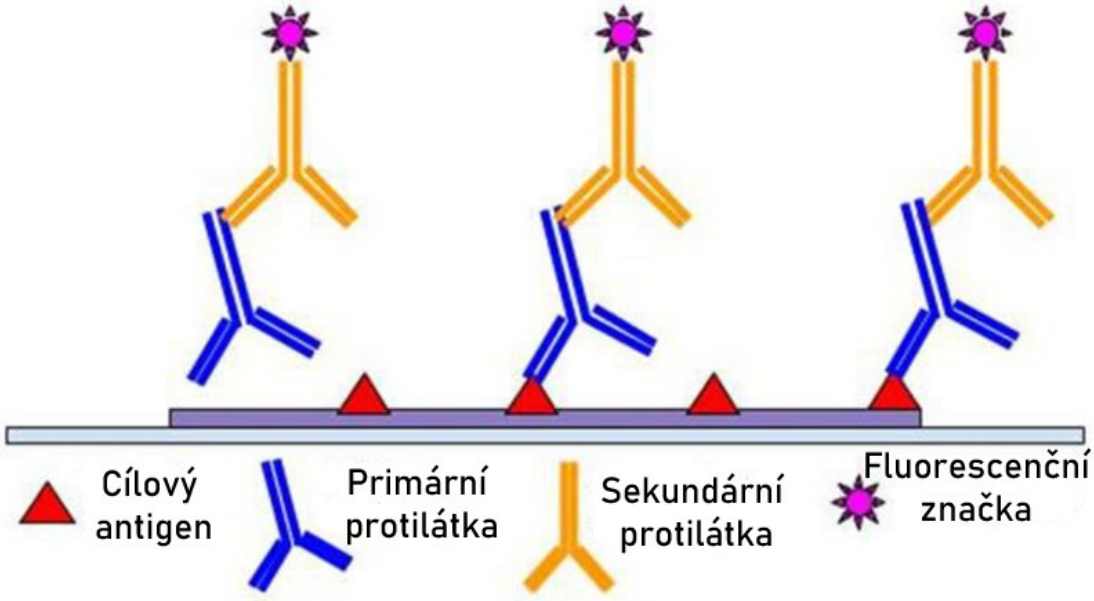
Přímá metoda (Obrázek 7) má fluorescenční značku přímo navázanou na primární protilátku, která reaguje s cílovým epitopem. Nepřímá metoda (Obrázek 8) probíhá ve dvou krocích. V prvním kroku se primární protilátka naváže na cílový epitop. Ve druhém kroku dochází k reakci sekundární protilátky na primární protilátku. Sekundární protilátka má na sobě navázanou fluorescenční značku. Nepřímá metoda je častěji používaná již díky své citlivosti, amplifikaci signálu ale i možnosti detekce více různých cílových epitopů najednou [48].

Látka, kterou se sekundární protilátka značí, může být založena na různých vizualizačních technikách. Nejčastěji jde o fluorescenční značku, která emituje záření po fotoexcitaci. Enzymatické značky emitují záření po reakci s chromogenem za vzniku barevného komplexu [48].



Obrázek 7 Přímá metoda imunofluorescence

(Upraveno z [48])



Obrázek 8 Nepřímá metoda imunofluorescence

(Upraveno z [48])

4.3 Moderní diagnostické techniky

V dnešní době je možné využít i jiných diagnostických metod než je barvení. Běžně se při diagnostice různých onemocnění využívá polymerázové řetězové reakce (PCR), průtokové cytometrie či různých imunologických vyšetření [6].

4.3.1 PCR

Vývoj metody PCR pro diagnostiku *Pneumocystis jirovecii* započal v 80. letech, kdy se pracovalo s ribozomální RNA (rRNA). Jedna z prvních metod byla nested PCR (nested PCR). Od té doby se ukázalo, že se jedná o náročnou a méně specifickou metodu než je real-time PCR [6].

PCR je citlivá a specifická metoda, která by dokázala být dobrou alternativou histologických diagnostických metod. V posledních letech se ukazuje že jde o více citlivou metodu detekce než jsou barvící techniky [6] [49].

Rozdíl v citlivosti záleží na typu použité PCR a na vzorku, ze kterého je DNA izolována. V případě real-time PCR a nested PCR dochází k vysoké citlivosti. U vzorků které byly prokázány pozitivní mikroskopickou analýzou, byla zjištěna citlivost real-time PCR 88 % a nested PCR 87 %. Citlivost metod při použití jiných typů vzorků se pohybovala okolo 62,5 -100 %. Největší problém měla real-time PCR s nenabarvenými sklíčky se vzorky BAL. V jiných typech vzorků však byla real-time PCR přesnější a specifičtější než nested PCR [49].

4.3.2 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie využívá několika parametrové analýzy jednotlivých buněk v roztoku. Buňky procházejí jednotlivě skrz sadu laserů a získaný signál je zachycen dvěma různými detektory: pro přímí rozptyl (FSC) a pro boční rozptyl (SSC). FSC detektor zachycuje velikost buňky a SSC, který je umístěn v 90° úhlu, udává granularitu a vnitřní složení. Dále jsou součástí celé aparatury i detektory závislé na fluorescenci, která je zajištěna vhodným barvením [50].

V případě *Pneumocystis jirovecii* je možné tuto metodu použít v modifikované verzi. Výsledky ukazují že se jedná o metodu s vysokou sensitivitu a specifitu v porovnání s imunologickým barvením. Riziko je však ve falešné pozitivitě, kterou některé vzorky vykazují. Aplikací průtokové cytometrie je mnoho, ale stále se nejedná o metodu, která by byla doporučována jako rutinní diagnostická metoda pro *Pneumocystis jirovecii* [6] [51].

5 LÉČBA

Léčba by měla být zahájena co nejdříve při podezření na pneumonii způsobenou *Pneumocystis jirovecii*. Pokud se u rizikových pacientů projeví příznaky pneumonie a radiografické vyšetření potvrdí výskyt onemocnění, je nutné učinit náležité kroky. Po zahájení léčby je stále možné *Pneumocystis jirovecii* detekovat a to i několik dní od zahájení léčby [18]. Zpoždění léčby je spojeno s mnohem horším výsledkem léčby hlavně u HIV negativních pacientů [52].

5.1 Antibiotika využívaná pro léčbu

Pro léčbu se nejčastěji využívají antibiotika. Kombinace trimetoprimu a sulfametoxazolu (TMP/SMX) se využívá v terapii nejčastěji. Dále je možné použít dapson, echinokandiny, pentamidin, pyrimethamin či atovachon [53] [54].

5.1.1 Trimetoprim a sulfametoxazol

Kombinace trimetoprimu a sulfametoxazolu (TMP/SMX) se používá k prevenci a léčbě mnoha bakteriálních onemocnění. Využívají se u infekcí močových cest, shigelóz a toxoplasmózy a to její léčby a prevence. Využívá se i pro infekce a léčbu onemocnění způsobených *Pneumocystis jirovecii* [55].

Sulfametoxazol je sulfonamidové antibiotikum, které působí na syntézu folátu uvnitř mikroorganismu. V mikroorganismu funguje jako kompetitivní inhibitor dihydropteroát syntázy. Tento enzym se účastní produkce prekurzoru kyseliny listové. Trimetoprim v mikroorganismu inhibuje dihydrofolát reduktázu, která se stejně jako předchozí enzym, účastní na tvorbě kyseliny listové. Vzhledem k síle trimetoprimu, je doporučené podávat sulfametoxazol dvacetkrát koncentrovanější než trimetoprim při jejich kombinaci [56] [55].

Formát, ve kterém se dávkování TMP/SMX udává, se liší v různých zemích. V USA se udává dávka pomocí trimetoprimové složky. V jiných zemích se dávkování udává v souvislosti s kombinovaným produktem. V USA by dávka 960 mg TMP/SMX informovala o dávce 960 mg trimetoprimu a 4800 mg sulfametoxazolu. V jiných zemích by toto dávkování mohlo informovat o dávce 160 mg trimetoprimu a 800 mg sulfametoxazolu [57].

V případě infekcí *Pneumocystis jirovecii* je dávkování různé dle závažnosti onemocnění. U mírné až středně těžké pneumonie je možné podávat 1600 mg sulfametoxazolu a 320 mg trimetoprimu ve formě tabletky třikrát denně. U středně těžké až těžké formy jsou antibiotika

podávána intravenózně v množství 15-20 mg/kg trimetoprimové složky v 6-8 hodinových intervalech. Délka terapie je v rozmezí 14-21 dní. [58] V posledních letech byly studovány i jiné dávky TMP/SMX. Nižší dávky, okolo 10 mg/kg/den trimetoprimové složky, ukazují podobné výsledky jako standardní dávkování. Rozdíl je v četnosti případů, u kterých došlo k rozvoji nežádoucích účinků [59].

Mezi nežádoucí účinky patří zvracení, průjem, nespavost, vyrážka, únava, anorexie či citlivost na světlo. Závažnější vedlejší účinky zahrnují různé anémie, Stevens-Johnson syndrom či pankreatitidu. Ve vzácných případech může nastat anafylaktický šok [55].

5.1.2 Dapson

Dapson je sulfonové antibiotikum, které má účinek na široké spektrum bakterií. Používá se hlavně na léčbu proti *Mycobacterium leprae* (Hansenova nemoc) ale také proti acne vulgaris a dermatitis herpetiformis [53] [60].

Mechanismus účinku dapsonu je založen na kombinaci antimikrobiálních a antiprotozoálních vlastností. Jde o bakteriostatické antibiotikum, které inhibuje syntézu kyseliny dihydrolistové. Dochází ke kompetici s kyselinou paraaminobenzoovou v aktivním místě dihydropteroát syntázy. Celý mechanismus je tedy podobný sulfonamidům. Dapson má i protizánětlivý účinek [61].

Nežádoucí účinky dapsonu můžou být zvracení, nevolnosti, ztráta chuti k jídlu či rozmazané vidění [62].

5.1.3 Echiokandiny

Echiokandiny jsou efektivní skupina antimykotik, které nejvíce působí na rody *Candida* a *Aspergillus*. Je možné využít i pro léčbu *Pneumocystis jirovecii*. Jejich mechanismus účinku je založen na inhibici 1,3-β-D-glukanu v buněčné stěně mikroorganismu, který je důležitou složkou buněčné stěny *Pneumocystis jirovecii* [63] [64] .

Účinky echiokandinů na *Pneumocystis jirovecii* byly pozorovány na zvířatech. U HIV pozitivních pacientů byla prokázána vysoká úspěšnost. V případě HIV negativních pacientů není dostatek informací o účinnosti. Využití echiokandinů u HIV negativních pacientů se zdá kontroverzní [64].

5.2 Antibiotická rezistence

Antibiotická rezistence k sulfonamidovým antibiotikům je u bakterií a parazitů výsledkem selektivního tlaku. Vzhledem k velkému rozšíření sulfonamidových antibiotik pro léčbu a prevenci *Pneumocystis jirovecii*, se stává antibiotická rezistence hrozbou [65].

TMP/SMX se využívá pro prevenci *Pneumocystis jirovecii* i u HIV pozitivních pacientů. U těchto pacientů byla pozorována rezistence kmenů *Staphylococcus aureus* a zástupců čeledi *Enterobacteriaceae* přímo na kombinaci TMP/SMX. Rezistence v tomto případě byla až dvakrát častější u HIV pacientů s prevencí proti *Pneumocystis jirovecii* [65].

V případě *Pneumocystis jirovecii* za rezistencí stojí mutace dihydropteroát syntázy (DHPS), která je součástí proteinu s trojí funkcí. Několik klinických studií bylo zaměřeno na důležitost a frekvenci těchto mutací. Ve výsledku byla zjištěna korelace předchozí léčby sulfonamidovými antibiotiky a mutace DHPS [65].

Vzhledem k obtížné kultivaci, která nedovoluje pozorování antibiotické rezistence, jsou tyto genetické změny pozorovány na modelovém organismu. Jako modelový organismus se využívá *Saccharomyces cerevisiae*. Pro pozorování genetických změn DHPS je využito zabudování běžně pozorovatelné DHPS struktury *Pneumocystis jirovecii* do kvasinky [66].

Selhání léčby je často spojeno s mutacemi T(597)A a P(599)S ve struktuře DHPS. Ve většině případů se tyto mutace vyskytují najednou [66].

5.3 Prevence

Prevence infekce *Pneumocystis jirovecii* je důležitá především u rizikových pacientů. Avšak vzhledem k rozmanitosti rizikových skupin a rostoucímu množství případů, mnoho pacientů potřebnou prevenci nezíská. Mezi tyto případy patří i pacienti s léky blokujícími B lymfocyty či T lymfocyty, pacienti procházející chemoterapií či pacienti kteří dostávají dávku protilátek vážících se na antigen CD52 [27].

5.3.1 HIV pozitivní pacienti

Infekce *Pneumocystis jirovecii* je jedna z nejčastějších oportunních infekcí u HIV pozitivních pacientů a pacientů s nízkým množstvím CD4 buněk. To se změnilo s nástupem kombinované anti-retrovirové terapie [67].

Prevencí pneumocystové pneumonie je podání TMP-SMX. To lze ukončit po úspěšné anti-retrovirové terapii, kdy dojde k rekonstrukci imunitního systému (nárůst počtu CD4 buněk). Tento postup je vhodný pro pacienty s počtem CD4 buněk pod 100/µl [67] [68].

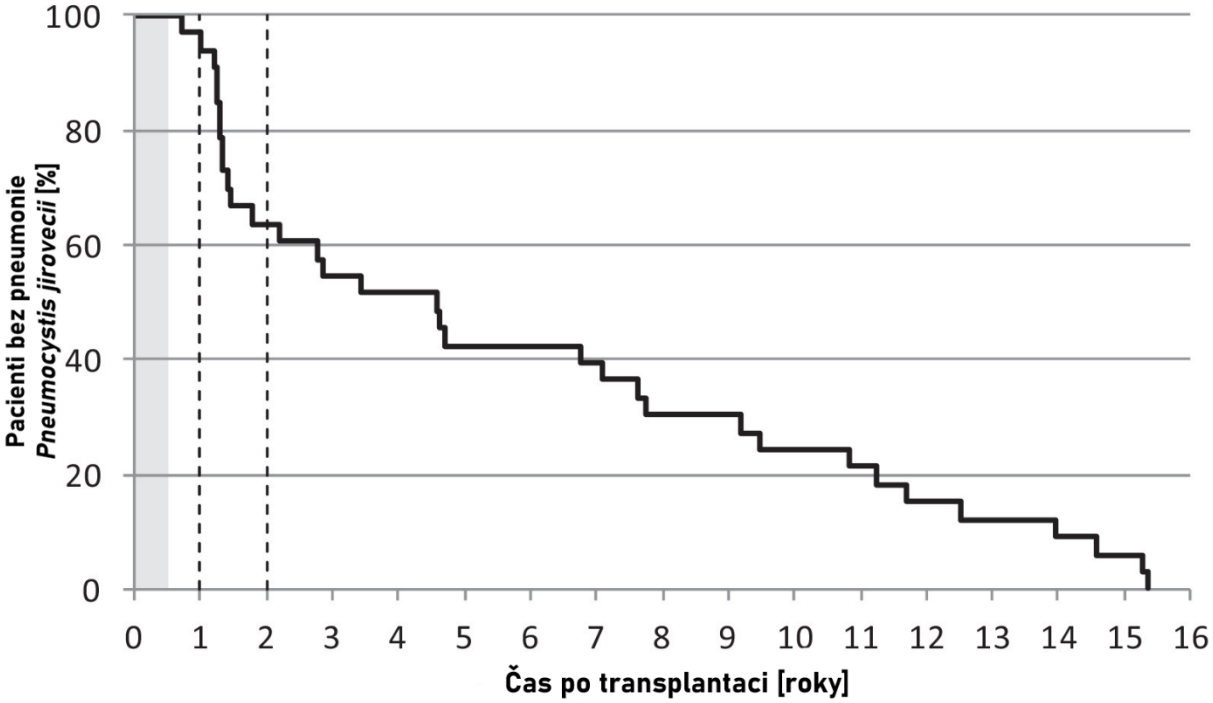
Mezi alternativní prevenci patří i podávání dapsonu s pyrimetaminem a leukovorinem či s aerosolizovaným pantamidinem. Preventivní léčba je doporučena HIV pozitivním pacientům s počtem CD4 buněk pod hodnotu 200 buněk/µl nebo pacientům s historií orální kandidózou. V případě že po anti-retrovirové terapii nedochází k nárůstu CD4 buněk či pacient tuto terapii ještě nepodstoupil, je doporučována preventivní léčba po celou dobu života. Výjimku činí pacienti, kteří onemocněli infekcí *Pneumocystis jirovecii* i přes vyšší počet CD4 buněk (nad 200 buněk/µl) [69].

5.3.2 Pacienti po transplantacích orgánů

U HIV pozitivních pacientů je přesně daný postup prevence pneumocystové pneumonie. To avšak neplatí pro pacienty po transplantacích. Nejvyšší riziko pro pacienty po transplantacích je během prvních 6 měsíců po transplantaci. Délka preventivní léčby se může lišit. Někdy je doporučována 3-6 měsíců od transplantace, někdy 6-12 měsíců od transplantace. Podávání léčby po celý život se nedoporučuje [17].

Pro prevenci se stejně jako u HIV pozitivních pacientů využívá TMP/SMX. Po srovnání výsledků v podávání této léčby jednou denně a třikrát týdně, bylo zjištěno že se výsledky v těchto případech neliší. Je tedy doporučeno podávat TMP/SMX třikrát týdně [70].

Ve studii Iriart a kol.(2015) byla sledována incidence pneumónií *Pneumocystis jirovecii* u pacientů po transplantacích mezi roky 2004 – 2010. Z celkových 1895 pacientů onemocnělo celkem 33 z nich. Tyto pacienty lze rozdělit dle času onemocnění od samotné transplantace do 3 period (Obrázek 9). Mezi tyto periody patří: první rok po transplantaci, druhý rok po transplantaci a následující roky po transplantaci. První rok po transplantaci, i s 6ti měsíční prevencí, docházelo k nízké incidenci pneumonie *Pneumocystis jirovecii*. Toto číslo se však ve druhém roce prudce zvýšilo. V následujících letech docházelo k postupnému nárustu [29].



Obrázek 9 Graf rozložení vývoje *Pneumocystis jirovecii* pneumonie u pacientů po transplantaci v čase (upraveno z [29])

Preventivní podávání antibiotik může vyvolat nežádoucí účinky. Jedním nežádoucím účinkem je vyšší riziko vyvolání leukopenie u pacientů s hematologickou rakovinou či u pacientů po transplantaci orgánu. Při léčbě může dojít i k trombocytopenii a k závažným dermatologickým reakcím. Všechny tyto případy vyžadují přerušení léčby [70].

5.3.3 Hematologické malignity

Prevence v případě hematologických malignit je doporučena u pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií, u pacientů po alogenní transplantaci kmenových buněk či pacientů s dlouhodobou terapií kortikosteroidy [27]. Mezi další onemocnění patří lymfomy, mozkové tumory či metastáze. U dětí je možné využít prevenci v případě akutní myeloblastické leukémie a tumorů [71].

Pro samotnou preventivní léčbu je v první řadě doporučené podávaní TMP/SMX. Nežádoucí účinky mohou vést k dočasnému či dlouhodobému přerušení léčby. Doposud nebylo zjištěno jak často se tyto nežádoucí účinky vyskytují u hematologických pacientů. Léky druhé volby jsou dapson či atovachon [71].

6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vytvoření přehledu zabývající se charakteristikou, onemocněním a léčbou infekcí způsobených *Pneumocystis jirovecii*.

Pneumocystis jirovecii způsobuje závažné pneumonie u pacientů s oslabeným imunitním systémem. Rizikovými skupinami jsou pacienti HIV pozitivní nebo pacienti po transplantacích. Pro tyto pacienty je nutná vhodná prevence.

Léčbu je nutné zahájit co nejdříve od prvního podezření na infekci. Nejčastěji se využívá kombinace antibiotik trimetoprimu a sulfamethoxazolu. Tato kombinace antibiotik je také využívána k prevenci infekce a léčbě onemocnění. Přesto že již byla prokázána rezistence *Pneumocystis jirovecii* na tato antibiotika nebyl zatím léčebný postup změněn.

Pneumocystis jirovecii je mikroorganismus, který je nutné podrobit dalšímu výzkumu. Stále nebyla nalezena cesta vedoucí k úspěšné kultivaci na umělých živných médiích. Výzkumy musí tedy probíhat na modelových organismech a není možné podrobně sledovat celý životní cyklus. I přes tato úskalí se stále nachází nové metody diagnostiky, které mohou současné postupy urychlit a upřesnit.

7 POUŽITÁ LITERATURA

[1] STRINGER, James, Charles BEARD, Robert MILLER a Ann WAKEFIELD. A New Name for Pneumocystis from Humans and New Perspectives on the Host-Pathogen Relationship. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2002, **8**(9), 891-896 [cit. 2023-04-08]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid0809.020096

[2] GIGLIOTTI, F., A. LIMPER a T. WRIGHT. Pneumocystis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [online]. 2014, **4**(12), 019828-019828 [cit. 2023-04-08]. ISSN 2157-1422. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a019828

[3] SOKULSKA, Magdalena, Marta KICIA, Maria WESOŁOWSKA a Andrzej HENDRICH. Pneumocystis jirovecii—from a commensal to pathogen: clinical and diagnostic review. *Parasitology Research* [online]. 2015, **114**(10), 3577-3585 [cit. 2023-04-08]. ISSN 0932-0113. Dostupné z: doi:10.1007/s00436-015-4678-6

[4] MACKOWIAK, P., M. SAJADI, G. FANTRY a L. FANTRY. A Czech Researcher and Pneumocystis. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2004, **39**(2), 270-271 [cit. 2023-04-08]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/422005

[5] LOM, Jiří. Otto Jírovec a rozvoj české parazitologie. *Vesmír: Přírodovědecký časopis*. 2007, **86**(137), 453-454. ISSN 1214-4029.

[6] BATEMAN, Marjorie, Rita OLADELE a Jay KOLLS. Diagnosing Pneumocystis jirovecii pneumonia: A review of current methods and novel approaches. *Medical Mycology*. 2020, **58**(8), 1015-1028. ISSN 1369-3786. Dostupné z: doi:10.1093/mmy/myaa024

[7] VERA, Cristian a Zulma RUEDA. Transmission and Colonization of Pneumocystis jirovecii. *Journal of Fungi*. 2021, **7**(11). ISSN 2309-608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof7110979

[8] CHOUKRI, Firas, Jean MENOTTI, Claudine SARFATI, Jean-Christophe LUCET, Gilles NEVEZ, Yves J. F. GARIN, Francis DEROUIN a Anne TOTET. Quantification and Spread of Pneumocystis jirovecii in the Surrounding Air of Patients with Pneumocystis

Pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*. 2010, **51**(3), 259-265. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/653933

[9] CHABÉ, Magali, Cécile-Marie ALIOUAT-DENIS, Laurence DELHAES, El ALIOUAT, Eric VISCOGLIOSI a Eduardo DEI-CAS. Pneumocystis: from a doubtful unique entity to a group of highly diversified fungal species. *FEMS Yeast Research*. 2011, **11**(1), 2-17. ISSN 15671356. Dostupné z: doi:10.1111/j.1567-1364.2010.00698.x

[10] MA, Liang, Ousmane CISSÉ a Joseph KOVACS. A Molecular Window into the Biology and Epidemiology of Pneumocystis spp. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018, **31**(3), 00009-18. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00009-18

[11] PANTANOWITZ, Liron, Gladwyn LEIMAN a Lynne GARCIA. Microbiology. In: *Cytopathology of Infectious Diseases*. 2012 ed. New York, NY: Springer New York, 2012, s. 37-84. Essentials in Cytopathology. ISBN 978-1-4614-0241-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4614-0242-8_4

[12] MORRIS, Alison, Jens LUNDGREN, Henry MASUR et al. Current Epidemiology of Pneumocystis Pneumonia. *Emerging Infectious Diseases*. 2004, **10**(10), 1713-1720. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid1010.030985

[13] KOLBRINK, Benedikt, Jubin SCHEIKHOLESLAMI-SABZEWARI, Christoph BORZIKOWSKY, Friedrich VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, Andrew ULLMANN, Ulrich KUNZENDORF a Kevin SCHULTE. Evolving epidemiology of pneumocystis pneumonia: Findings from a longitudinal population-based study and a retrospective multi-center study in Germany. *The Lancet Regional Health - Europe*. 2022, **18**(2022). ISSN 26667762. Dostupné z: doi:10.1016/j.lanepe.2022.100400

[14] ROUX, Antoine, Emmanuel CANET, Sandrine VALADE et al. Pneumocystis jirovecii Pneumonia in Patients with or without AIDS, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2014, **20**(9), 1490-1497. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid2009.131668

[15] SALZER, Helmut J.F., Guido SCHÄFER, Martin HOENIGL, Gunar GÜNTHER, Christian HOFFMANN, Barbara KALSDORF, Alexandre ALANIO a Christoph LANGE. Clinical, Diagnostic, and Treatment Disparities between HIV-Infected and Non-

HIV-Infected Immunocompromised Patients with Pneumocystis jirovecii Pneumonia. *Respiration*. 2018, **96**(1), 52-65. ISSN 0025-7931. Dostupné z: doi:10.1159/000487713

[16] NASR, Mohamed, Amad MOHAMMAD, Mosab HOR, Ahmed BARADEIYA a Hodan QASIM. Exploring the Differences in Pneumocystis Pneumonia Infection Between HIV and Non-HIV Patients. *Cureus* [online]. 2022, (14) [cit. 2023-06-14]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.27727

[17] IRIART, Xavier, Marine BOUAR, Nassim KAMAR a Antoine BERRY. Pneumocystis Pneumonia in Solid-Organ Transplant Recipients. *Journal of Fungi*. 2015, **1**(3), 293-331. ISSN 2309-608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof1030293

[18] MASCHMEYER, Georg, Jannik HELWEG-LARSEN, Livio PAGANO, Christine ROBIN, Catherine CORDONNIER a Peter SCHELLONGOWSKI. ECIL guidelines for treatment of Pneumocystis jirovecii pneumonia in non-HIV-infected haematology patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2016, **71**(9), 2405-2413 [cit. 2023-04-10]. ISSN 1460-2091. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkw158

[19] ASAI, Nobuhiro, Shinji MOTOJIMA, Yoshihiro OHKUNI et al. Non-HIV Pneumocystis pneumonia: do conventional community-acquired pneumonia guidelines under estimate its severity?. *Multidisciplinary Respiratory Medicine* [online]. 2012, **7**(1) [cit. 2023-04-10]. ISSN 2049-6958. Dostupné z: doi:10.1186/2049-6958-7-2

[20] HUANG, Liping, Shuyun XU, Zhimin HUANG, Yusheng CHEN, Nengluan XU a Baosong XIE. Risk factors associated with Pneumocystis jirovecii pneumonia in non-HIV immunocompromised patients and co-pathogens analysis by metagenomic next-generation sequencing. *BMC Pulmonary Medicine* [online]. 2023, **23**(1) [cit. 2023-05-02]. ISSN 1471-2466. Dostupné z: doi:10.1186/s12890-022-02300-8

[21] Cytomegalovirus, Neurological Consequences of. In: *National institute of Neurological Disorders and Stroke* [online]. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 2023 [cit. 2023-05-08]. Dostupné z: https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/cytomegalovirus-neurological-consequences

[22] LEE, Sua, Yohan PARK, Seong KIM, Eun KO, Byung CHUNG a Chul YANG. The impact of cytomegalovirus infection on clinical severity and outcomes in kidney

transplant recipients with Pneumocystis jirovecii pneumonia. *Microbiology and Immunology* [online]. 2020, **64**(5), 356-365 [cit. 2023-05-07]. ISSN 0385-5600. Dostupné z: doi:10.1111/1348-0421.12778

[23] Epstein-Barr Virus. In: *Cleveland clinic* [online]. Cleveland, Ohio: Cleveland Clinic, 2023 [cit. 2023-05-08]. Dostupné z: https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/23469-epstein-barr-virus

[24] AHMADI, Mehran, Abdollah KARIMI, Sedigheh RAFIEI TABATABAEI, Fatemeh FALLAH a Farideh SHIVA. Detection of 5 Latent Herpes Viruses and Pneumocystis Jirovecii in Saliva of Healthy Children by PCR. *Archives of Pediatric Infectious Diseases* [online]. 2013, **2**(3), 160-163 [cit. 2023-05-08]. ISSN 2322-1828. Dostupné z: doi:10.5812/pedinfect.11509

[25] SZYDŁOWICZ, Magdalena a Olga MATOS. Pneumocystis pneumonia in the COVID-19 pandemic era: similarities and challenges. *Trends in Parasitology* [online]. 2021, **37**(10), 859-862 [cit. 2023-04-11]. ISSN 14714922. Dostupné z: doi:10.1016/j.pt.2021.07.010

[26] COLEMAN, Harry, Luke SNELL, Rebecca SIMONS, Sam DOUTHWAITE a Ming LEE. Coronavirus disease 2019 and Pneumocystis jirovecii pneumonia: a diagnostic dilemma in HIV. *AIDS* [online]. 2020, **34**(8), 1258-1260 [cit. 2023-04-11]. ISSN 0269-9370. Dostupné z: doi:10.1097/QAD.0000000000002571

[27] WHITE, P., Jessica PRICE a Matthijs BACKX. Therapy and Management of Pneumocystis jirovecii Infection. *Journal of Fungi*. 2018, **4**(4). ISSN 2309-608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof4040127

[28] ALVARO-MECA, Alejandro, Ines PALOMARES-SANCHO, Asuncion DIAZ, Rosa RESINO, Angel DE MIGUEL a Salvador RESINO. Pneumocystis pneumonia in HIV-positive patients in Spain: epidemiology and environmental risk factors. *Journal of the International AIDS Society* [online]. 2015, **18**(1) [cit. 2023-05-08]. ISSN 17582652. Dostupné z: doi:10.7448/IAS.18.1.19906

[29] IRIART, X., T. CHALLAN BELVAL, J. FILLAUX et al. Risk Factors of Pneumocystis Pneumonia in Solid Organ Recipients in the Era of the Common Use of

Posttransplantation Prophylaxis. *American Journal of Transplantation*. 2015, **15**(1), 190-199. ISSN 16006135. Dostupné z: doi:10.1111/ajt.12947

[30] PERMPALUNG, Nitipong, Veraprapas KITTIPIBUL, Poemlarp MEKRAKSAKIT, Pattara RATTANAWONG, Saman NEMATOLLAHI, Sean ZHANG a Seema STEINKE. A Comprehensive Evaluation of Risk Factors for Pneumocystis jirovecii Pneumonia in Adult Solid Organ Transplant Recipients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Transplantation* [online]. 2021, **105**(10), 2291-2306 [cit. 2023-05-05]. ISSN 0041-1337. Dostupné z: doi:10.1097/TP.0000000000003576

[31] GABORIT, Benjamin, Benoit TESSOULIN, Rose-Anne LAVERGNE et al. Outcome and prognostic factors of Pneumocystis jirovecii pneumonia in immunocompromised adults: a prospective observational study. *Annals of Intensive Care*. 2019, **9**(1). ISSN 2110-5820. Dostupné z: doi:10.1186/s13613-019-0604-x

[32] LIU, Chia-Jung, Tai-Fen LEE, Sheng-Yuan RUAN, Chong-Jen YU, Jung-Yien CHIEN a Po-Ren HSUEH. Clinical characteristics, treatment outcomes, and prognostic factors of emPneumocystis/em pneumonia in non-HIV-infected patients/p. *Infection and Drug Resistance* [online]. 2019, **12**(201912), 1457-1467 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1178-6973. Dostupné z: doi:10.2147/IDR.S199761

[33] LIMPER, Andrew H. Diagnosis of Pneumocystis carinii Pneumonia: Does Use of Only Bronchoalveolar Lavage Suffice?. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 1996, **71**(11), 1121-1123 [cit. 2023-06-14]. ISSN 00256196. Dostupné z: doi:10.4065/71.11.1121

[34] PATEL, Pujan, Marsha ANTOINE a Saad ULLAH. Bronchoalveolar Lavage. In: *StatPearls [Internet]* [online]. 2022. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023 [cit. 2023-04-08]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430762/

[35] KATSIS, James, Otis RICKMAN, Fabien MALDONADO a Robert LENTZ. Bronchoscopic biopsy of peripheral pulmonary lesions in 2020: a review of existing technologies. *Journal of Thoracic Disease*. 2020, **12**(6), 3253-3262. ISSN 20721439. Dostupné z: doi:10.21037/jtd.2020.02.36

[36] RICE, Sandy a Adithya CATTAMANCHI. Bronchoscopy with Transbronchial Biopsy. In: *Healthline* [online]. New York: Healthline Media [cit. 2023-04-08]. Dostupné z: https://www.healthline.com/health/bronchoscopy-with-transbronchial-biopsy

[37] HAMMARSTRÖM, Helena, Anna GRANKVIST, Isabell BROMAN, Nahid KONDORI, Christine WENNERåS, Magnus GISSLEN a Vanda FRIMAN. Serum-based diagnosis of Pneumocystis pneumonia by detection of Pneumocystis jirovecii DNA and 1,3-β-D-glucan in HIV-infected patients: a retrospective case control study. *BMC Infectious Diseases*. 2019, **19**(1). ISSN 1471-2334. Dostupné z: doi:10.1186/s12879-019-4289-4

[38] HOMAYOUNI, Mohamad, Ali ROSTAMI, Hamed GHOLIZADEH, Amir MEHBOD, Maryam EBRAHIMI a Saeed MEHRAVAR. Comparison of three cost effective staining methods for detection of Pneumocystis jirovecii. *Journal of Parasitic Diseases* [online]. 2017, **41**(1), 298-301 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0971-7196. Dostupné z: doi:10.1007/s12639-016-0776-3

[39] Grocott-Gomori's Methenamine Silver Staining. In: *Microbe Notes* [online]. Nepal: Microbe notes, 2018 [cit. 2023-02-22]. Dostupné z: https://microbenotes.com/grocott-gomoris-methenamine-silver-staining/

[40] LU, Xiaoxiao, Jianhui ZHANG, Wentao MA, Lihua XING, Hanbing NING a Mengying YAO. Pneumocystis Jirovecii Pneumonia Diagnosis via Metagenomic Next-Generation Sequencing. *Frontiers in Medicine* [online]. 2022, **9** [cit. 2023-05-13]. ISSN 2296-858X. Dostupné z: doi:10.3389/fmed.2022.812005

[41] SRIDHARAN, Gokul a AkhilA SHANKAR. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* [online]. 2012, **16**(2) [cit. 2023-05-13]. ISSN 0973-029X. Dostupné z: doi:10.4103/0973-029X.99081

[42] Toluidine Blue Staining - Staining Protocol. In: *LabCE* [online]. MediaLab, 2001 [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: https://www.labce.com/spg531612_toluidine_blue_staining___staining_protocol.aspx

[43] NEVEZ, Gilles, Philippe HAUSER a Solène LE GAL. Pneumocystis jirovecii. *Trends in Microbiology* [online]. 2020, **28**(12), 1034-1035 [cit. 2023-05-14]. ISSN 0966842X. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2020.03.006

[44] Giemsa Stain: Principle, Procedure, Results. In: *Microbe Online* [online]. Nepal: Microbe Online, 2008 [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: https://microbeonline.com/giemsa-stain-principle-procedure-and-results/

[45] VYTŘASOVÁ, Jarmila a Zuzana BÍLKOVÁ. *Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie*. Vyd. 3. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2014. ISBN 978-80-7395-747-6.

[46] ANDAMA, A., A. CATTAMANCHI, J DAVIS, S. BOON, W. WORODRIA a L. HUANG. Modified Giemsa method for confirmation of Pneumocystis pneumonia in low-income countries. *Case Reports* [online]. 2009, **2009**(211), 0220091580-0220091580 [cit. 2023-05-14]. ISSN 1757-790X. Dostupné z: doi:10.1136/bcr.02.2009.1580

[47] Papanicolaou Staining (Pap stain) for Pap Smear / Pap Test. In: *Microbe Notes* [online]. Nepal: Microbe notes, 2008 [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: https://microbenotes.com/papanicolaou-staining/

[48] IM, Kyuseok, Sergey MARENINOV, M. DIAZ a William YONG. An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. In: YONG, William H., ed., William YONG. *Biobanking* [online]. New York, NY: Springer New York, 2019, s. 299-311 [cit. 2023-05-14]. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-4939-8933-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_26

[49] ALVAREZ-MARTÍNEZ, Míriam, José MIRÓ, Maria VALLS et al. Sensitivity and specificity of nested and real-time PCR for the detection of Pneumocystis jiroveci in clinical specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. 2006, **56**(2), 153-160 [cit. 2023-05-14]. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/j.diagmicrobio.2006.03.010

[50] MCKINNON, Katherine M. Flow Cytometry: An Overview. *Current Protocols in Immunology* [online]. 2018, **120**(1) [cit. 2023-05-14]. ISSN 1934-3671. Dostupné z: doi:10.1002/cpim.40

[51] BARBOSA, J., C. BRAGADA, S. COSTA-DE-OLIVEIRA, E. RICARDO, A. RODRIGUES a C. PINA-VAZ. A new method for the detection of Pneumocystis jirovecii using flow cytometry. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. 2010, **29**(9), 1147-1152 [cit. 2023-05-14]. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-010-0980-5

[52] LI, Ming-Chi, Nan-Yao LEE, Ching-Chi LEE, Hsin-Chun LEE, Chia-Ming CHANG a Wen-Chien KO. Pneumocystis jiroveci pneumonia in immunocompromised patients: Delayed diagnosis and poor outcomes in non-HIV-infected individuals. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* [online]. 2014, **47**(1), 42-47 [cit. 2023-04-10]. ISSN 16841182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmii.2012.08.024

[53] WISHART, DS, C KNOX, AC GUO, S SHRIVASTAVA, M HASSANALI, P STOTHARD, Z CHANG a J WOOLSEY. Antibiotics for Pneumocystis Pneumonia. In: *Drugbank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration* [online]. Canada: The Metabolomics Innovation Center, 2006 [cit. 2023-04-16]. Dostupné z: https://go.drugbank.com/categories/DBCAT005155

[54] Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in Adults and Adolescents with HIV. In: *Clinical info HIV* [online]. USA: Office of AIDS Research (OAR), 2020 [cit. 2023-04-16]. Dostupné z: https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/hiv-clinical-guidelines-adult-and-adolescent-opportunistic-infections/pneumocystis-0

[55] KEMNIC, TR a M COLEMAN. Trimethoprim Sulfamethoxazole. In: *National library of medicine* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls [Internet], 2022 [cit. 2023-04-16]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513232/

[56] EYLER, Rachel a Kristina SHVETS. Clinical Pharmacology of Antibiotics. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* [online]. 2019, **14**(7), 1080-1090 [cit. 2023-04-15]. ISSN 1555-9041. Dostupné z: doi:10.2215/CJN.08140718

[57] MAHONEY, M. V. Golik. Clarification of Trimethoprim/Sulfamethoxazole Dose in CAPD. *Peritoneal Dialysis International: Journal of the International Society for Peritoneal Dialysis* [online]. 2015, **35**(1), 116-118 [cit. 2023-06-08]. ISSN 0896-8608. Dostupné z: doi:10.3747/pdi.2013.00173

[58] Sulfamethoxazole / Trimethoprim Dosage. In: *Drugs: Know more. Be sure.* [online]. Auckland, New Zealand: American Society of Health-System Pharmacists, Cerner Multum and IBM Watson Micromedex, c1996-2018 [cit. 2023-04-16]. Dostupné z: https://www.drugs.com/dosage/sulfamethoxazole-trimethoprim.html#Usual_Adult_Dose_for_Pneumocystis_Pneumonia

[59] BUTLER-LAPORTE, Guillaume, Elizabeth SMYTH, Alexandre AMAR-ZIFKIN, Matthew CHENG, Emily MCDONALD a Todd LEE. Low-Dose TMP-SMX in the Treatment of Pneumocystis jirovecii Pneumonia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Open Forum Infectious Diseases* [online]. 2020, **7**(5) [cit. 2023-04-16]. ISSN 2328-8957. Dostupné z: doi:10.1093/ofid/ofaa112

[60] WISHART, DS, C KNOX, AC GUO, S SHRIVASTAVA, M HASSANALI, P STOTHARD, Z CHANG a J WOOLSEY. Dapsone. In: *Drugbank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration* [online]. Canada: The Metabolomics Innovation Center, 2006 [cit. 2023-04-16]. Dostupné z: https://go.drugbank.com/drugs/DB00250

[61] SALAVEC, Miloslav, Vanda BOŠTÍKOVÁ, Nora BOŠTÍKOVÁ a Pavel BOŠTÍK. CHEMOTERAPEUTIKUM DAPSON – ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKAA ZAJÍMAVÉ VÝSLEDKY KLINICKÝCH STUDIÍ. *Military Medical Science Letters* [online]. 2017, **86**(3), 114-121 [cit. 2023-04-16]. ISSN 03727025. Dostupné z: doi:10.31482/mmsl.2017.019

[62] Dapsone - Uses, Side Effects, and More. In: *WebMD* [online]. Atlanta, GA: Internet Brands company, 2005 [cit. 2023-05-09]. Dostupné z: https://www.webmd.com/drugs/2/drug-6744/dapsone-oral/details

[63] SZYMAńSKI, Mateusz, Sandra CHMIELEWSKA, Urszula CZYżEWSKA, Marta MALINOWSKA a Adam TYLICKI. Echinocandins – structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* [online]. 2022, **37**(1), 876-894 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1475-6366. Dostupné z: doi:10.1080/14756366.2022.2050224

[64] HUANG, Hui-Bin, Jing-Min PENG a Bin DU. Echinocandins for Pneumocystis jirovecii pneumonia in non-HIV patients: A case report. *Experimental and Therapeutic Medicine*

[online]. 2018 [cit. 2023-06-08]. ISSN 1792-0981. Dostupné z: doi:10.3892/etm.2018.6587

[65] HELWEG-LARSEN, Jannik, Thomas BENFIELD, Joseph KOVACS a Henry MASUR. Drug Resistance in Pneumocystis jirovecii. In: MAYERS, Douglas L., ed., Douglas MAYERS. *Antimicrobial Drug Resistance* [online]. 1. Totowa, NJ: Humana Press, 2009, s. 993-1007 [cit. 2023-05-02]. ISBN 978-1-60327-594-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-60327-595-8_22

[66] ILIADES, Peter, Steven MESHNICK a Ian MACREADIE. Dihydropteroate Synthase Mutations in Pneumocystis jiroveci Can Affect Sulfamethoxazole Resistance in a Saccharomyces cerevisiae Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2004, **48**(7), 2617-2623 [cit. 2023-05-02]. ISSN 0066-4804. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.48.7.2617-2623.2004

[67] COHERE. Is It Safe to Discontinue Primary Pneumocystis jiroveci Pneumonia Prophylaxis in Patients with Virologically Suppressed HIV Infection and a CD4 Cell Count <200 Cells/μL?. *Clinical Infectious Diseases*. 2010, **51**(5), 611-619. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/655761

[68] KOSHY, Robin a Thomas CHEN. Combination therapy with trimethoprim-sulfamethoxazole and caspofungin in a case of severe pneumocystis pneumonia. *IDCases*. 2019, **15**. ISSN 22142509. Dostupné z: doi:10.1016/j.idcr.2019.e00496

[69] HUANG, L., A. CATTAMANCHI, J. DAVIS et al. HIV-Associated Pneumocystis Pneumonia. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2011, **8**(3), 294-300. ISSN 1546-3222. Dostupné z: doi:10.1513/pats.201009-062WR

[70] STERN, Anat, Hefziba GREEN, Mical PAUL, Liat VIDAL a Leonard LEIBOVICI. Prophylaxis for Pneumocystis pneumonia (PCP) in non-HIV immunocompromised patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. ISSN 14651858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD005590.pub3

[71] MAERTENS, Johan, Simone CESARO, Georg MASCHMEYER et al. ECIL guidelines for preventing Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*

[online]. 2016, **71**(9), 2397-2404 [cit. 2023-04-15]. ISSN 1460-2091. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkw157