

Rezistence k terbinafinu u *Trichophyton mentagrophytes* a *Trichophyton rubrum*: situace v České republice a ve světě

Kolarczyková D.¹, Lysková P.², Švarcová M.^{3,4}, Kuklová I.⁵, Dobiáš R.^{6,7}, Mallátová N.⁸, Kolařík M.³, Hubka V.^{1,3}

¹Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha
vedoucí katedry doc. Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.

²Laboratoř mykologie, oddělení lékařské mikrobiologie Praha a Kladno, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Praha

vedoucí oddělení Ing. Josef Čermák, Ph.D.

³Laboratoř genetiky a metabolismu hub, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha
vedoucí laboratoře doc. Mgr. Miroslav Kolařík, Ph.D.

⁴Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha
vedoucí katedry doc. RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

⁵Dermatovenerologická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha
přednosta kliniky prof. MUDr. Jiří Štork, CSc.

⁶Oddělení bakteriologie a mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Ostrava
vedoucí oddělení Mgr. Eva Krejčí Ph.D.

⁷Ústav laboratorní biomedicíny, Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava
vedoucí ústavu prof. MUDr. David Stejskal, Ph.D., MBA

⁸Laboratoř parazitologie a mykologie, Centrální laboratoře, Nemocnice České Budějovice
ředitel centrálních laboratoří MUDr. Miroslav Verner

SOUHRN

Terbinafin, allylaminové antimykotikum, je léčivo první volby při systémové léčbě dermatofytóz. Inhibuje enzym skvalen-epoxidázu (SQLE), zapojený v biosyntetické dráze ergosterolu. Šíření terbinafinové rezistence u dermatofytů je nová výzva. Nejvyšší prevalence rezistence je popisována v Indii a jihovýchodní Asii, avšak rozšiřuje se globálně. Tato studie shrnuje data o rezistenci ze světa u druhů *Trichophyton rubrum* a *T. mentagrophytes* a porovnává je s daty z České republiky (ČR), včetně molekulárních mechanismů rezistence. V letech 2020–2021 bylo v ČR screeningovou metodou pro detekci rezistence testováno 514 kmenů *T. rubrum* a v letech 2018–2021 240 kmenů *T. mentagrophytes*. Rezistence byla zjištěna pouze u druhu *T. mentagrophytes* s prevalencí 2,5 %. Všechny rezistentní kmeny nesly mutaci F397L v genu SQLE a vykazovaly vysoké minimální inhibiční koncentrace k terbinafinu (≥ 4 mg/l). Vzhledem k relativně nízké prevalenci rezistence není nutné měnit současné postupy pro léčbu dermatofytóz v ČR, nicméně průběžné monitorování zůstává důležité.

Klíčová slova: allylaminová antimykotika – antropofilní dermatofyty – antimykotická rezistence – dermatofytóza – skvalen-epoxidáza – *Trichophyton mentagrophytes* – *Trichophyton rubrum* – zoofilní dermatofyty

SUMMARY

Resistance to Terbinafine in *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*: Situation in the Czech Republic and in the World

Terbinafine, an allylamine antifungal agent, is the drug of first choice in the systemic treatment of dermatophytoses. It inhibits the enzyme squalene epoxidase (SQLE), involved in the ergosterol biosynthetic pathway. The spread of terbinafine resistance in dermatophytes is a new challenge. The highest prevalence of resistance is described in India and Southeast Asia, but it is spreading globally. This study summarizes resistance data from around the world in *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* species and compares them with data from the Czech Republic, including molecular mechanisms of resistance. Between 2020 and 2021, 514 strains of *T. rubrum* and 240 strains of *T. mentagrophytes* have been screened for resistance in the Czech Republic. Resistance was detected only in *T. mentagrophytes* with a prevalence of 2.5%. All resistant strains carried the F397L mutation in the SQLE gene and

showed high minimum inhibitory concentrations to terbinafine (≥ 4 mg/L). Due to the relatively low prevalence of resistance, there is no need to change the current management of dermatophytoses in the Czech Republic, but continuous monitoring remains important.

Key words: allylamine antifungals – anthropophilic dermatophytes – antifungal resistance – dermatophytosis – squalene-epoxidase – *Trichophyton mentagrophytes* – *Trichophyton rubrum* – zoophilic dermatophytes

Čes-slov Derm, 99, 2024, No. 5, p. 200–208

ÚVOD

Pro léčbu dermatofytózy jsou k dispozici léčiva patřící do několika různých tříd antimykotik, přičemž terbinafin je antimykotikum ze skupiny allylaminů a patří mezi léčiva první volby [25]. Terbinafin inhibuje enzym skvalen-epoxidázu (SQLE), a narušuje tak oxidaci skvalenu na skvalen-epoxid. To vede k akumulaci skvalenu, prekursoru ergosterolu, který je nezbytný v plasmatických membránách, kde mimo jiné hraje roli při udržování její fluidity a propustnosti. Zvýšená propustnost buněčné membrány nakonec vede k buněčné smrti [35, 47].

Nárůst výskytu rezistence k terbinafinu je popisován zejména u druhů *Trichophyton mentagrophytes* a *T. rubrum*, u kterých byly stanoveny breakpointy pro rezistenci *in-vitro* hodnotami 0,25 mg/l pro *T. mentagrophytes* a 0,125 mg/l pro *T. rubrum* [1]. Nárůst rezistence je v současnosti popisován zejména v Indii a jihovýchodní Asii. Problém s léčbou dermatomykóz v této oblasti existuje již zhruba od roku 2010 a vykazuje zhoršující se trend [9]. Rezistentní izoláty obvykle obsahují bodové nesynonymní mutace v genu SQLE, které vedou k změně jedné nebo více aminokyselin. To má za následek změnu konformace vazebného místa enzymu pro léčivo a významně se tak snižuje afinita léčiva k enzymu [33, 40]. To vede k rezistentnímu fenotypovému projevu, což je možno *in vitro* detekovat zvýšením minimální inhibiční koncentrace (MIC) antimykotika. V jihovýchodní Asii se k léčbě dermatofytóz běžně používají nevhodné léky, např. krémy obsahující kombinaci antibiotik, antimykotik a kortikosteroidů. Pacienti se těmito přípravky často léčí sami (kombinací nevhodné formy léčiva, nedostatečné koncentrace antimykotika a nevhodného léčebného režimu), protože jsou snadno dostupné bez lékařského předpisu a za relativně nízkou cenu [45]. Mezi další obecně platné formy neadekvátní léčby, které mohou vést k rozvoji rezistence, patří nedokončení celého léčebného cyklu, nízké dávkování a nedodržování dávkovacích intervalů. Tyto faktory přispívají k selhání léčby a perzistenci původce, což vede k selekci méně citlivých kmenů [39].

Taxonomický koncept druhu *T. rubrum*, náležejícího do *T. rubrum* komplexu spolu s *T. violaceum* a *T. sudanense*, je relativně stabilní a druh je definován na základě molekulárních a fenotypových znaků [7, 12]. Taxonomie komplexu *Trichophyton interdigitale/mentagrophytes* je však mnohem více turbulentní a za poslední tři dekády v ní došlo k mnoha zásadním

změnám, popsaným do detailu v četných publikacích [17, 18, 31, 42]. Podle většiny současných publikací zahrnuje komplex tři hlavní druhy, jejichž hranice jsou z taxonomického pohledu umělé a nevhodně definované [42]. Jedná se o druhy *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale* a *T. indotineae* [20], přičemž *T. indotineae* je nedávno popsán druh, u kterého se vyskytuje vysoké procento kmenů rezistentních k terbinafinu, a je z převážně většiny zodpovědný za současnou vysokou prevalenci této rezistence v JV Asii. Jiné označení pro *T. indotineae* je „ITS genotyp VIII druhu *T. mentagrophytes*“, což vychází z iniciativy označovat veškeré unikátní ITS genotypy v komplexu *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae* římskými číslicemi. V současnosti je známo minimálně 28 takových genotypů, přičemž pět z nich náleží druhu *T. interdigitale* a zbylé druhu *T. mentagrophytes* [22, 44]. Protože druhy *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale* a *T. indotineae* nemají unikátní morfologii, ani nejsou monofyletické, bylo navrženo je všechny sloučit do druhu *T. mentagrophytes* s možností odlišovat jednotlivé populace jako variety: *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* a *T. mentagrophytes* var. *indotineae* [42]. V této práci následujeme toto doporučení a označujeme všechny izoláty z komplexu jako *T. mentagrophytes* a v případě potřeby užíváme kategorie variety pro upřesnění identifikace.

Cílem této práce je seznámit čtenáře s problematikou šíření rezistence k terbinafinu u dermatofytů, konkrétně druhů *T. rubrum* a *T. mentagrophytes*, včetně molekulárních mechanismů rezistence a prevalence rezistence k terbinafinu v České republice a ve světě. Vzhledem k rostoucímu celosvětovému trendu výskytu rezistence se tento výzkum významně dotýká klinické praxe a může ovlivnit zavedené standardy v preskripci antimykotik užívaných k léčbě dermatofytóz.

PREVALENCE REZISTENCE K TERBINAFINU VE SVĚTĚ

Uváděná prevalence rezistence k terbinafinu ve státech JV Asie a v Indii se pohybuje v širokém rozmezí od 0–76 %, což je způsobeno rozdílným zaměřením studií, které se soustředily na různé skupiny pacientů a geografické oblasti [11, 15]. Výskyt rezistence však není omezen pouze na oblast Jižní Asie, ale je stále častěji pozorován po celém světě. Jedním z možných důvodů šíření rezistence je zavlečení rezistentních kmenů turisty a imigranty z Indie, Bangladéše, Pákis-

Tabulka 1. Výskyt terbinafinové rezistence ve světě u *Trichophyton rubrum* a *T. mentagrophytes*

Druh	Země	Období	Typ dermatofytózy/pacienti	Počet institucí	Počet rezistentních izolátů/celkový počet izolátů (prevalence %)	MIC TERB*	Mutace v genu SQLE	Citace
<i>T. rubrum</i>	Dánsko	2013–2018	neuvedeno	neuvedeno	14/14 (100 %) ¹	0,125–>8	F397L, L393S, L393F, F415S, H440Y, F484Y, I121M, V237I	[38]
		2019–2020	neuvedeno	1	31/51 (60,8 %) ²	0,25–>4	F397L, F397I, L393F, L393S, L437P	[3]
	Japonsko	ND	Tinea pedis, cruris, corporis, manuum	neuvedeno	1/19 (5,3 %)	0,004–>32	L393F	[37]
		2020	Tinea pedis, corporis, unguium, cruris, manuum, faciei, capitis	5	5/128 (3,9 %)	32–>32	L393F	[16]
	Švýcarsko	2013–2016	Tinea pedis, unguium	neuvedeno	16/1644 (0,97 %)	0,4–>12,8	L393F, L393S, F397L, F397I, F415V	[46]
		2013–2021	Tinea unguium, cruris, pedis, corporis, manuum	1	39/4229 (0,95 %)	0,125–16	F397L, L393F, F397I, L393S	[4]
	USA	srpen–říjen 2022	Tinea unguium	3	187/5207 (3,6 %)	ND	F397L, F415S	[14]
	Severní Amerika	2021–2022	neuvedeno	neuvedeno	21/117 (18 %)	>2	F397L, L393S, Q408L, A448T	[6]
	Francie	leden–září 2021	Tinea unguium, pedis, manus, cruris, corporis	7	1/436 (0,23 %)	4	L393S, F397L	[29]
	Indie	2017–2019	Tinea corporis, cruris, faciei, manuum, pedis, barbae	8	8/18 (44 %) ³	8	F397L	[11]
<i>T. mentagrophytes</i>	Dánsko	2019–2020	neuvedeno	1	7/11 (63,6 %) ²	2–>4	F397L, L393F, A448Y	[37]
		2013–2016	Tinea pedis, unguium	neuvedeno	1/412 (0,24 %)	3,2	F397L	[46]
	Švýcarsko	2013–2021	Tinea unguium, cruris, pedis, corporis, manuum	1	8/1405 (0,57 %)	0,125–8	F397L, L393F, F397I, L393S	[4]
		srpen–říjen 2022	Tinea unguium	3	28/660 (4,3 %)	ND	F397L, F415S	[14]
	Severní Amerika	2021–2022	neuvedeno	neuvedeno	23/41 (56 %)	>2	F397L, L393S, Q408L, A448Y	[6]
	Francie	leden–září 2021	Tinea unguium, pedis, manus, cruris, corporis	7	2/144 (1,38 %)	2–8	L393S, F397L	[29]
	Řecko	2010–2019	Tinea unguium, corporis, cruris	1	9/36 (25 %)	0,25–8	F397L, L393S	[41]
	Indie	2017–2019	Tinea corporis, cruris, faciei, manuum, pedis, barbae	8	202/279 (72 %) ³	0,5–≥16	F397L, L393F	[11]

*Minimální inhibiční koncentrace terbinafinu

¹Pacienti nereagovali na předchozí léčbu terbinafinem.

²Všechny testované kmeny měly mutace v genu SQLE.

³Pacienti byli dříve léčeni antibiotiky a kortikosteroidy.

tánu, Saúdské Arábie nebo Thajska [19]. Značný podíl infekcí je však v evropských zemích v současné době hlášen u rezidentů, což naznačuje komunitní šíření [32]. Jednotlivé případy nebo série případů způsobených rezistentními kmeny *T. rubrum* nebo *T. mentagrophytes* byly zdokumentovány v různých evropských i mimoevropských zemích, včetně Belgie [36], Dánska [38], Francie [19], Itálie [5], Íránu [37, 43], Japonska [16, 21], Kanady [34], Německa [32], Polska [26], Ruska [28], Řecka [41], Turecka [10] a USA [13, 30]. Pouze několik málo studií však zkoumalo prevalenci rezistence u významného počtu kmenů *T. rubrum* nebo *T. mentagrophytes* v průběhu delšího časového horizontu. Například dvě studie provedené ve Švýcarsku zkoumaly vzorky od pacientů s podezřením na dermatofytózu z jednoho pracoviště v letech 2013–2016 a 2013–2021. Tyto studie ve zmíněných obdobích zjistily celkovou prevalenci rezistence k terbinafinu v rozmezí 0,92–0,97 % pro *T. rubrum* a 0,24–0,57 % pro *T. mentagrophytes* [4, 46]. Ve Francii byla provedena prospektivní multicentrická studie, do které se zapojilo sedm diagnostických laboratoří v oblasti Paříže v období od ledna do září 2021. Zjištěná prevalence rezistence dosahovala 0,23 % pro *T. rubrum* a 0,69 % pro *T. mentagrophytes* [29]. Studie provedená v Řecku v letech 2010–2019 zkoumala všechny dermatofyty odebrané v jedné laboratoři. Žádný z testovaných izolátů *T. rubrum* nebyl rezistentní (0/436), rezistenci však vykazovalo 25 % izolátů *T. mentagrophytes* (9/36). Všechny rezistentní izoláty byly identifikovány jako *T. mentagrophytes* var. *indotineae*, kdežto citlivé izoláty patřily do variet *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* a *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* [41]. Studie z USA, zaměřená na pacienty s mykózou nehtů nohou, zaznamenala prevalenci rezistence 3,6 % u *T. rubrum* a 4,3 % u *T. mentagrophytes* [15]. Další studie provedená v letech 2021–2022 v referenční laboratoři shromažďující izoláty dermatofytů z institucí v Severní Americe, zaznamenala vysokou míru rezistence 18 % pro *T. rubrum* (21 rezistentních izolátů ze 117) a 56 % pro *T. mentagrophytes* (23 rezistentních izolátů ze 41 : 1/15 *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, 1/5 *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* a 21/21, *T. mentagrophytes* var. *indotineae*) [6]. Uváděná vysoká úroveň rezistence je v tomto případě pravděpodobně značně nadhodnocená, jelikož specializované klinické laboratoře tohoto typu často dostávají pouze kmeny s podezřením na rezistenci [27]. Podobně je tomu i v případě studie z Dánska, která během dvou let detekovala rezistenci u 31 izolátů *T. rubrum* z 51 zkoumaných (61 %) a 7 *T. mentagrophytes* z 11 zkoumaných (63 %) [3].

K celosvětově nejběžnějším typům mutací v genu SQLE u rezistentních kmenů patří mutace F397L, L393P a L393S, které ovlivňují konformaci vazebného místa enzymu pro terbinafin [38, 39, 41]. Zjištěné prevalence rezistence *T. rubrum* a *T. mentagrophytes* k terbinafinu v různých zemích včetně odhalených mutací v genu SQLE jsou shrnuty v tabulce 1.

SITUACE V ČESKÉ REPUBLICĚ

Cílem této části je seznámit čtenáře s výsledky nedávno publikované studie zaměřené na rezistenci k terbinafinu u dermatofytů v ČR [23]. Ve studii Kolarczyková et al. byly české klinické izoláty *T. mentagrophytes* prospektivně sbírány v letech 2018–2021 a izoláty *T. rubrum* v letech 2020–2021 ze čtyř klinických institucí: Dermatovenerologická klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze; Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Praha; Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě; Nemocnice České Budějovice. Izoláty byly získány od pacientů s různými formami dermatofytóz, především onychomykózou a tineou pedis a tineou corporis (včetně podtypů tinea faciei a tinea cruris). Izoláty byly identifikovány klinickými lékaři nebo odbornými pracovníky laboratoří na základě makromorfologie kolonií a mikromorfologických znaků jako *T. rubrum* nebo *T. mentagrophytes*/*T. interdigitale*. Identifikace všech izolátů *T. mentagrophytes*/*T. interdigitale* byla ověřena sekvenováním DNA v oblasti ITS rDNA, jak je detailně popsáno ve studii [42]. Molekulární identifikace izolátů *T. rubrum* pomocí sekvenace byla provedena pouze u morfologicky atypických kmenů, zatímco kmeny s typickou morfologií [8, 12] byly považovány za *T. rubrum*. Na obrázku 1 je uveden kompletní přehled metodik použitých k detekci rezistentních kmenů a molekulárních mechanismů zodpovědných za rezistenci.

Celkem bylo ve studii shromážděno 514 kmenů *T. rubrum* (2020, n = 171; 2021, n = 343) a 240 kmenů *T. mentagrophytes* (2018, n = 32; 2019, n = 84; 2020, n = 54; 2021, n = 70). Nejčastějším typem dermatofytózy u pacientů s *T. rubrum* byla onychomykóza (tinea unguium) (61,5 %), následovaná tineou pedis (25 %) a tineou corporis (13,4 %). Věkový medián pacientů byl 48 let. Izoláty *T. mentagrophytes* byly odebrány od pacientů trpícími převážně onychomykózou (40 %), méně často tineou corporis (32,5 %) a tineou pedis (27,5 %). Věkový medián pacientů byl 47 let. Na základě molekulární identifikace pomocí ITS oblasti rDNA bylo 7 kmenů klasifikováno jako *T. mentagrophytes* var. *indotinae* (ITS genotyp VIII), 162 jako *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* a 71 jako *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*.

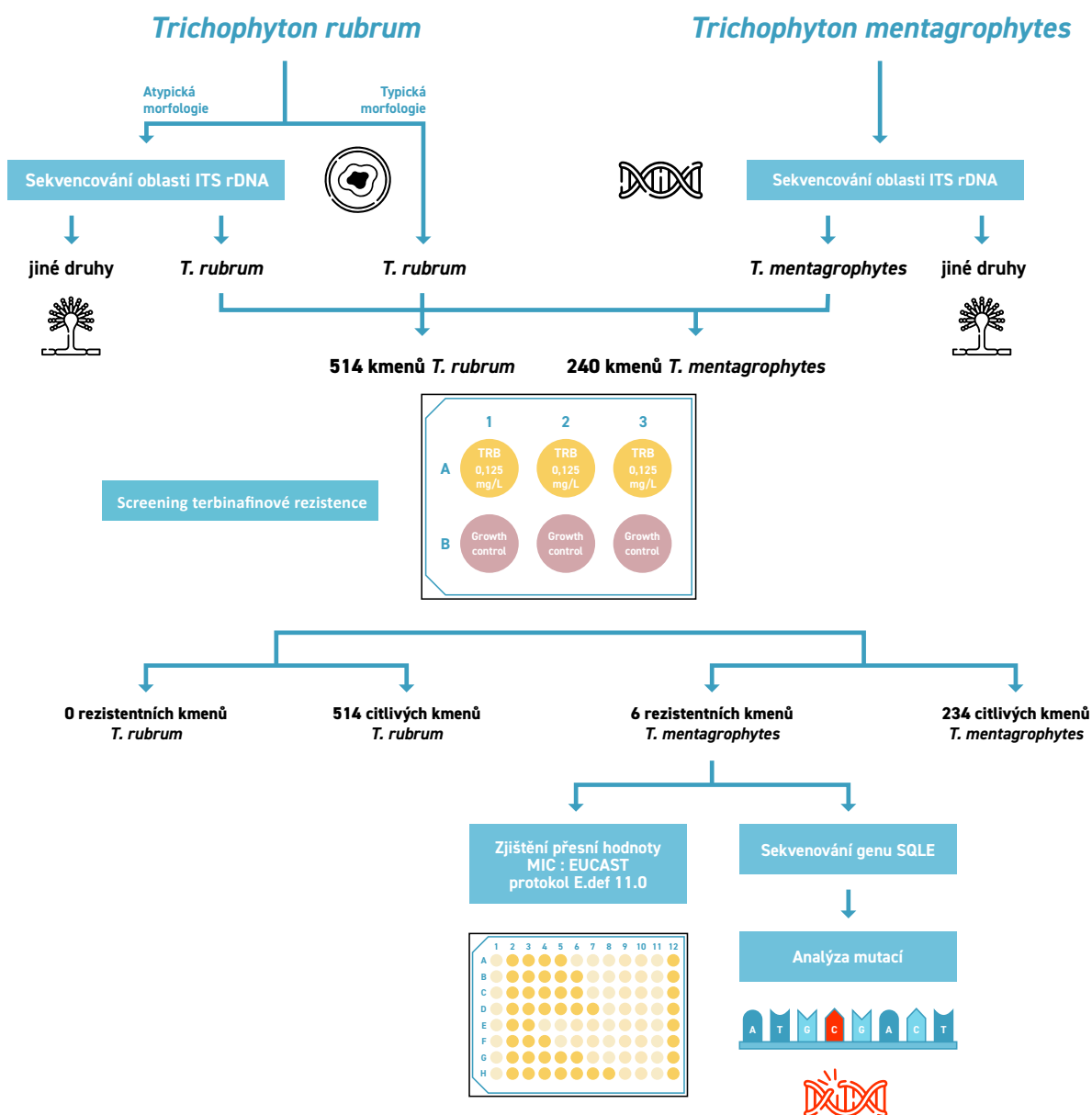
Všechny kmeny byly testovány na rezistenci k terbinafinu screeningovou metodou, kdy suspenze konidií každého kmenu byla inokulována na dvě jamky: jedna jamka s agarovým médiem obsahovala terbinafin o koncentraci 0,125 µg/ml a další jamka byla kontrolní bez antimykotika. U všech rezistentních izolátů a také všech izolátů klasifikovaných jako *T. mentagrophytes* var. *indotinae* byl sekvenován gen SQLE, aby bylo možno identifikovat potenciální mutace zodpovědné za rezistenci. Amplifikace byla provedena pomocí primerů a postupu publikovaného autory Kong et al. [24]. Výsledná aminokyselinová sekvence byla porovnána se sekvencemi citlivého kmene (wild type, WT) *T. men-*

tagrophytes TIMM2789 (přístupové číslo v databázi GenBank: KU242352).

Mezi 514 kmeny *T. rubrum* nebyly detekovány žádné kmeny vykazující rezistentní fenotyp. Naproti tomu u druhu *T. mentagrophytes* bylo odhaleno šest rezistentních kmenů, které byly dle ITS sekvence identifikovány jako *T. mentagrophytes* var. *indotineae*. Celková míra rezistence v letech 2018–2021 u *T. mentagrophytes* tedy byla 2,5 %. Tyto kmeny byly získány v letech 2019 (n = 1), 2020 (n = 4) a 2021 (n = 1), přičemž v roce 2018 nebyly zjištěny žádné rezistentní kmeny. Míra rezistence v roce 2019 tedy činila 1,2 % (1/84), v roce 2020 9,3 %

(4/54) a v roce 2021 1,4 % (1/70). Kromě těchto šesti kmenů *T. mentagrophytes* var. *indotineae* s rezistentním fenotypem, byl zjištěn ještě jeden kmen této variety, který byl k terbinafinu citlivý.

Všechny kmeny *T. mentagrophytes* var. *indotineae* byly testovány metodou EUCAST E.Def 11.0 [2] za účelem stanovení přesné MIC pro několik antimykotik (tab. 2). U všech rezistentních izolátů byla MIC pro terbinafin > 4 mg/L, zatímco u citlivého kmenu (CCF 7006) byla MIC 0,008 mg/l. MIC azolových antimykotik (itrakonazolu, ketokonazolu, klotrimazolu a efinakonazolu), ciclopirox olaminu a amorolfinu byly u všech testovaných



Obr. 1. Metodika detekce terbinafinové rezistence u českých pacientů infikovaných *Trichophyton rubrum* a *T. mentagrophytes* ve studii Kolarczykova et al. [23]

Sběr a třídění izolátů dle morfologie či molekulární identifikace; detekce terbinafinové rezistence screeningovou metodou (screeningová destička s jamkami o koncentraci terbinafinu 0,125 mg/l a kontrolním médiem bez terbinafinu); zjištění minimálních inhibičních koncentrací (MIC) k setu antimykotik metodikou EUCAST E.def 11.0; detekce mutací sekvenováním genu pro skvalen-epoxidázu (SQLE).

izolátů nízké, zatímco u flukonazolu se MIC pohybovaly mezi 8 a > 64 (viz tab. 2).

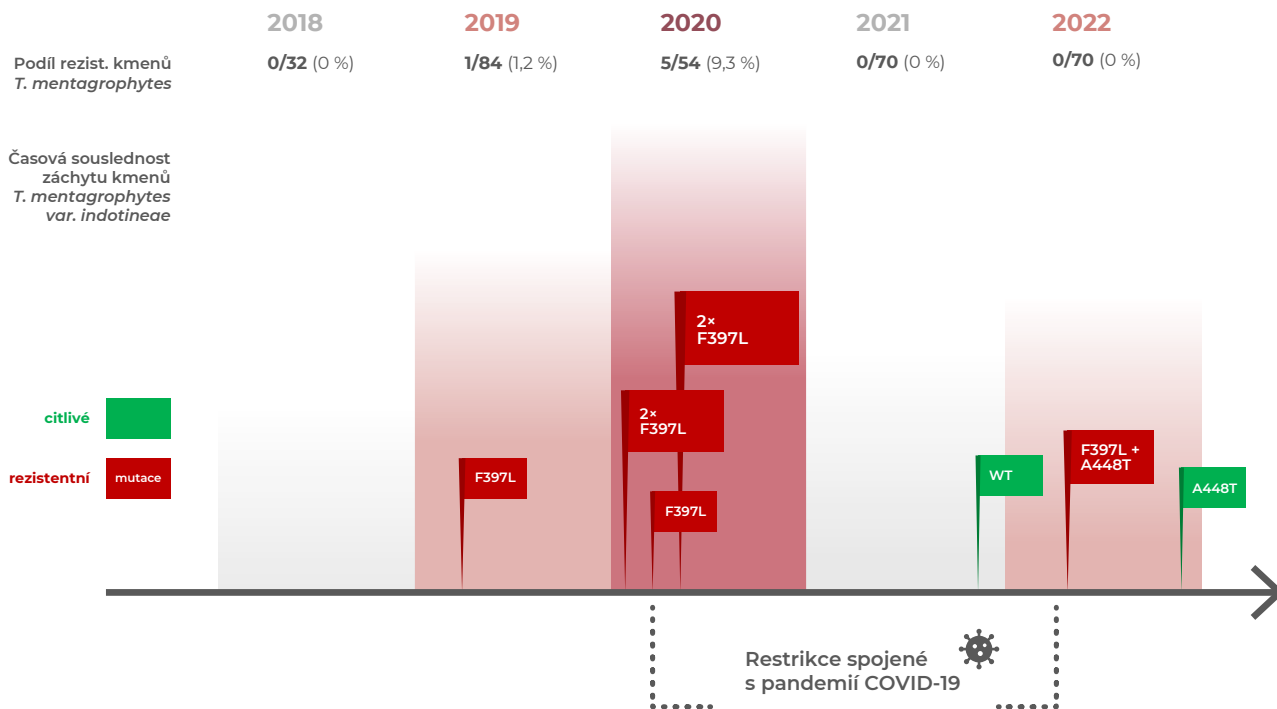
Šest ze sedmi izolátů *T. mentagrophytes* var. *indotinae* mělo missense mutaci F397L. U citlivého kmenu

CCF 7006 nebyly nalezeny žádné mutace v genu SQLE. Informace o pacientech infikovaných kmeny *T. mentagrophytes* var. *indotinae* jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 2. Klinická data, citlivost k antimykotikům a molekulární data spojená s českými pacienty infikovanými *Trichophyton mentagrophytes* var. *indotinae*

Číslo izolátu	Věk/pohlaví	Klinická forma dermatofytózy	Bydliště	Datum odběru	Mutace (SQLE)	Přístupová čísla v databázi GenBank		MICs (mg/L) zjištěná použitím metody EUCAST E.def 11.0							
						ITS	SQLE	TRB	FLU	ITR	KET	CLO	AMO	CIC	EFI
CCF 6687	44 ♂	Tinea pedis	Praha	IV/2019	F397L	OR863411	OR862934	>4	16	0,008	0,064	0,5	0,064	1	0,016
CCF 6639	21 ♂	Onychomykóza	Hostivice	I/2020	F397L	OR863412	OR862935	>4	16	0,016	0,125	1	0,125	1	0,125
CCF 6685	29 ♂	Tinea corporis	Praha	I/2020	F397L	OR863413	OR862936	>4	>64	≤0,008	0,125	1	0,064	1	0,032
CCF 6688	23 ♀	Tinea corporis (cruris)	České Budějovice	III/2020	F397L	OR863414	OR862937	>4	8	≤0,008	0,032	0,125	0,064	0,5	0,016
CCF 6640	36 ♀	Onychomykóza	Praha	IV/2020	F397L	OR863415	OR862938	>4	32	0,032	0,25	1	0,064	1	0,064
CCF 6686	59 ♀	Onychomykóza	Praha	IV/2020	F397L	OR863416	OR862939	>4	16	≤0,008	0,125	0,5	0,064	1	0,016
CCF 7006	27 ♂	Tinea corporis (faciei)	Plzeň	XI/2021	Nedetekována	OR863417	OR862940	0,008	1	≤0,008	≤0,008	0,064	0,064	0,5	≤0,008

Legenda: ♂, muž; ♀, žena; SQLE, skvalen-epoxidáza; MIC, minimální inhibiční koncentrace; TRB, terbinafin; FLU, flukonazol; ITR, itraconazol; KET, ketokonazol; CLO, klotrimazol; AMO, amorolfín; CIC, ciclopirox olamine; EFI, efinakonazol



Obr. 2. Časová osa záchytu kmenů *T. mentagrophytes* var. *indotinae* v ČR během studie s vyznačením typů zjištěných mutací a prevalence rezistence v jednotlivých letech

DISKUSE

Šíření rezistence k terbinafinu u dermatofytů se v posledních letech stalo celosvětovým fenoménem [39]. Nezkreslené údaje o prevalenci rezistence v dostatečně velkých souborech kmenů (zahrnujících všechny případy, nikoliv pouze suspektně rezistentní kmeny, nebo případy neodpovídající na terapii terbinafinem), jsou však dostupné pouze z několika zemí [4, 11, 14, 29, 41, 46]. Z převážně většiny evropských států však data stále chybí a do nedávna k nim patřila i Česká republika.

Studie Kolarczykova et al. [23] v období 2020–2021 nezjistila u českých pacientů přítomnost terbinafinové rezistence u klinických izolátů *T. rubrum* [23], což odpovídá studii z Řecka [41], která u tohoto druhu taktéž nedetekovala rezistenci. Oproti tomu srovnatelné studie z Dánska, Francie, Švýcarska a USA terbinafinovou rezistenci u *T. rubrum* detekovaly [15, 29, 38, 41, 46] – viz tabulka 1. U *T. mentagrophytes* byla v ČR za období 2018–2021 zjištěna souhrnná úroveň rezistence 2,5 %, která je vyšší než úroveň rezistence zjištěná v obdobných studiích ve Švýcarsku a Francii, ale nižší než v USA, Řecku a Indii [11, 14, 32, 41] (viz tab. 1). V ČR bylo detekováno šest rezistentních kmenů *T. mentagrophytes* var. *indotinae* a u všech byla odhalena missense mutace F397L (viz tab. 2), která patří k celosvětově nejběžnějším popsaným mutacím (viz tab. 1), a je zodpovědná za vysoký stupeň rezistence k terbinafinu [3, 4, 11, 14, 41]. Tyto kmeny vykazovaly nízké MIC k amorolfinu, ciclopirox olaminu a azolovým antimykotikům s výjimkou flukonazolu, ke kterému jsou však dermatofyty většinou přirozeně rezistentní [48]. Azolová antimykotika tak představují vhodnou alternativu pro léčbu dermatofytóz při selhání terbinafinu [15].

Původ rezistentních kmenů v ČR může být částečně přičten cestování a migraci, jelikož jeden kmen byl nalezen u pacienta indické národnosti a další izolát pocházel od pacientky, jejíž partner dříve krátce pobýval ve Vietnamu. Zajímavé je, že pět ze šesti rezistentních kmenů bylo izolováno v krátkém rozmezí několika měsíců před zavedením pandemických restrikcí během pandemie covid-19 (obr. 2). Omezení cestování a kontaktů během následujícího období mohlo negativně ovlivnit počáteční komunitní šíření těchto kmenů, protože během období květen 2020 až prosinec 2021 již nebyly zjištěny žádné rezistentní izoláty.

Po skončení prospektivní studie Kolarczykova et al. [23] již v ČR neprobíhal screening podobného rozsahu jaký zachycuje obrázek 1, ale pokračovala molekulární identifikace prospektivně sbíraných kmenů *T. mentagrophytes* ze stejných pracovišť. V roce 2022 mezi 92 kmeny *T. mentagrophytes* byly objeveny další dva kmeny *T. mentagrophytes* var. *indotinae*. Pouze jeden z těchto kmenů byl rezistentní k terbinafinu. Byl izolován od pacienta indické národnosti a nesl mutace F397L a A448T v genu SQLE. Druhý kmen, který byl izolován od pacienta české národnosti, byl citlivý k terbinafinu a vykazoval mutaci A448T. Objevení dalšího

rezistentního izolátu po pandemii je tedy možné opět připsat migraci, přičemž kombinace mutací u obou zachycených izolátů *T. mentagrophytes* var. *indotinae* je odlišná v porovnání s pre-pandemickými kmeny. To ukazuje na výskyt nebo zavlečení nových genotypů *T. mentagrophytes* var. *indotinae* na naše území.

Přestože je současná úroveň rezistence k terbinafinu v ČR nízká, bylo by vhodné zjišťovat profil citlivosti k antimykotikům alespoň při klinickém selhání léčby. Prevalenci rezistence k terbinafinu je nutné i nadále monitorovat, aby bylo možné řešit případný budoucí nárůst rezistence i vzhledem k rostoucímu trendu v sousedních zemích a opětovně zvýšené migraci obyvatelstva po pandemii covid-19. V současné době však vzhledem k nízké úrovni rezistence není potřeba revidovat zavedené léčebné postupy pro léčbu dermatofytóz v ČR.

LITERATURA

1. ARENDRUP, M. C., JØRGENSEN, K. M., GUINEA, J. et al. Multicentre validation of a EUCAST method for the antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, 75, p. 1807–1819.
2. ARENDRUP, M. C., KAHLMEYER, G., GUINEA, J. et al. How to: perform antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes following the new reference EUCAST method E. Def 11.0, exemplified by *Trichophyton*. *Clin Microbiol Infect*, 2021, 27, p. 55–60.
3. ASTVAD, K. M. T., HARE, R. K., JØRGENSEN, K. M. et al. Increasing terbinafine resistance in Danish *Trichophyton* isolates 2019–2020. *J Fungi*, 2022, 8, p. 150.
4. BLANCHARD, G., AMAROV, B., FRATTI, M. et al. Reliable and rapid identification of terbinafine resistance in dermatophytic nail and skin infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2023, 37, p. 2080–2089.
5. BORTOLUZZI, P., PRIGITANO, A., SECHI, A. et al. Report of terbinafine resistant *Trichophyton* spp. in Italy: Clinical presentations, molecular identification, antifungal susceptibility testing and mutations in the squalene epoxidase gene. *Mycoses*, 2023, p. 680–687.
6. CAÑETE-GIBAS, C. F., MELE, J., PATTERSON, H. P. et al. Terbinafine-resistant dermatophytes and the presence of *Trichophyton indotinae* in North America. *J Clin Microbiol*, 2023, 61, p. e00562–23.
7. DE HOOG, G. S., DUKIK, K., MONOD, M. et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*, 2017, 182, p. 5–31.
8. DE HOOG, G. S., GUARRO, J., GENÉ, J., AHMED, S., AL-HATMI, A. M. S., FIGUERAS, M. J., VITALE, R. G. *Atlas of Clinical Fungi*. 4th edition. Hilversum, The Netherlands, 2020. Hilversum.

9. DOGRA, S., UPRETY, S. The menace of chronic and recurrent dermatophytosis in India: Is the problem deeper than we perceive? *Indian Dermatol Online J*, 2016, 7, p. 73–76.
10. DURDU, M., KANDEMIR, H., KARAKOYUN, A. S. et al. First terbinafine-resistant *Trichophyton indotineae* isolates with Phe397Leu and/or Thr414His mutations in Turkey. *Mycopathologia*, 2023, 188, p. 295–304.
11. EBERT, A., MONOD, M., SALAMIN, K. et al. Alarming India-wide phenomenon of antifungal resistance in dermatophytes: a multicentre study. *Mycoses*, 2020, 63, p. 717–728.
12. GRÄSER, Y., KUIJPERS, A., PRESBER, W. et al. Molecular taxonomy of the *Trichophyton rubrum* complex. *J Clin Microbiol*, 2000, 38, p. 3329–3336.
13. GU, D., HATCH, M., GHANNOUM, M. et al. Treatment-resistant dermatophytosis: A representative case highlighting an emerging public health threat. *JAAD Case Reports*, 2020, 6, p. 1153–1155.
14. GUPTA, A. K., COOPER, E. A., WANG, T. et al. Detection of squalene epoxidase mutations in US onychomycosis patients: implications for management. *J Invest Dermatol*, 2023, 143, p. 2332–2334.
15. GUPTA, A. K., TALUKDER, M., VENKATARAMAN, M. Review of the alternative therapies for onychomycosis and superficial fungal infections: posaconazole, fosravuconazole, voriconazole, oteseconazole. *Int J Dermatol*, 2022, 61, p. 1431–1441.
16. HIRUMA, J., NOGUCHI, H., HASE, M. et al. Epidemiological study of terbinafine-resistant dermatophytes isolated from Japanese patients. *J Dermatol*, 2021, 48, p. 564–567.
17. HYDE, K. D., BALDRIAN, P., CHEN, Y. et al. Current trends, limitations and future research in the fungi? *Fungal Divers*, 2024, 125, p. 1–71.
18. CHOLLET, A., CATTIN, V., FRATTI, M. et al. Which fungus originally was *Trichophyton mentagrophytes*? Historical review and illustration by a clinical case. *Mycopathologia*, 2015, 180, p. 1–5.
19. JABET, A., BRUN, S., NORMAND, A.-C. et al. Extensive dermatophytosis caused by terbinafine-resistant *Trichophyton indotineae*, France. *Emerg Infect Dis*, 2022, 28, p. 229–233.
20. KANO, R., KIMURA, U., KAKURAI, M. et al. *Trichophyton indotineae* sp. nov.: a new highly terbinafine-resistant anthropophilic dermatophyte species. *Mycopathologia*, 2020, 185, p. 947–958.
21. KIMURA, U., HIRUMA, M., KANO, R. et al. Caution and warning: arrival of terbinafine-resistant *Trichophyton interdigitale* of the Indian genotype, isolated from extensive dermatophytosis, in Japan. *J Dermatol*, 2020, 47, p. e192–e193.
22. KLINGER, M., THEILER, M. Epidemiological and clinical aspects of *Trichophyton mentagrophytes*/*Trichophyton interdigitale* infections in the Zurich area: a retrospective study using genotyping. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2021, 35, p. 1017–1025.
23. KOLARCZYKOVÁ, D., LYSKOVÁ, P., ŠVARCOVÁ, M. et al. Terbinafine resistance in *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* in the Czech Republic: A prospective multicentric study. *Mycoses*, 2024, 67, p. e13708.
24. KONG, X., TANG, C., SINGH, A. et al. Antifungal susceptibility and mutations in the squalene epoxidase gene in dermatophytes of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65, p. e00056–21.
25. KUKLOVÁ, I. Onychomykózy. *Remedia*, 2016, 26, p. 242–245.
26. ŁAGOWSKI, D., GNAT, S., NOWAKIEWICZ, A. et al. Intrinsic resistance to terbinafine among human and animal isolates of *Trichophyton mentagrophytes* related to amino acid substitution in the squalene epoxidase. *Infection*, 2020, 48, p. 889–897.
27. LOCKHART, S. R., SMITH, D. J., GOLD, J. A. *Trichophyton indotineae* and other terbinafine-resistant dermatophytes in North America. *J Clin Microbiol*, 2023, 61, p. e00903–23.
28. MANOYAN, M., SOKOLOV, V., GURSHEVA, A. et al. Sensitivity of isolated dermatophyte strains to antifungal drugs in the Russian Federation. *J Fungi*, 2019, 5, p. 95.
29. MORENO-SABATER, A., NORMAND, A.-C., BIDAUD, A.-L. et al. Terbinafine resistance in dermatophytes: a French multicenter prospective study. *J Fungi*, 2022, 8, p. 220.
30. MUKHERJEE, P. K., LEIDICH, S. D., ISHAM, N. et al. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47, p. 82–86.
31. NENOFF, P., HERRMANN, J., GRÄSER, Y. *Trichophyton mentagrophytes* sive interdigitale? A dermatophyte in the course of time. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 2007, 5, p. 198–202.
32. NENOFF, P., VERMA, S. B., EBERT, A. et al. Spread of terbinafine-resistant *Trichophyton mentagrophytes* type VIII (India) in Germany – “the tip of the iceberg?”. *J Fungi*, 2020, 6, p. 207.
33. OSBORNE, C. S., LEITNER, I., FAVRE, B. et al. Amino acid substitution in *Trichophyton rubrum* squalene epoxidase associated with resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49, p. 2840–2844.
34. POSSO-DE LOS RIOS, C. J., TADROS, E., SUMMERBELL, R. C. et al. Terbinafine resistant *Trichophyton indotineae* isolated in patients with superficial dermatophyte infection in Canadian patients. *J Cutan Med Surg*, 2022, 26, p. 371–376.
35. RYDER, N. Terbinafine: mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. *Br J Dermatol*, 1992, 126, p. 2–7.
36. SACHELI, R., HARAG, S., DEHAVAY, F. et al. Belgian national survey on tinea capitis: Epidemiological considerations and highlight of terbinafine-resistant *T. mentagrophytes* with a mutation on SQLE gene. *J Fungi*, 2020, 6, p. 195.

37. SALEHI, Z., SHAMS-GHAHFAROKHI, M., RAZZA-GHI-ABYANEH, M. Antifungal drug susceptibility profile of clinically important dermatophytes and determination of point mutations in terbinafine-resistant isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2018, 37, p. 1841–1846.
38. SAUNTE, D. M., HARE, R. K., JØRGENSEN, K. M. et al. Emerging terbinafine resistance in *Trichophyton*: clinical characteristics, squalene epoxidase gene mutations, and a reliable EUCAST method for detection. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63, p. e01126–19.
39. SHEN, J. J., ARENDRUP, M. C., VERMA, S. et al. The emerging terbinafine-resistant *Trichophyton* epidemic: What is the role of antifungal susceptibility testing? *Dermatology*, 2022, 238, p. 60–79.
40. SINGH, A., MASIH, A., KHURANA, A. et al. High terbinafine resistance in *Trichophyton interdigitale* isolates in Delhi, India harbouring mutations in the squalene epoxidase gene. *Mycoses*, 2018, 61, p. 477–484.
41. SIOPI, M., EFSTATHIOU, I., THEODOROPOULOS, K. et al. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of *Trichophyton* isolates in Greece: emergence of terbinafine-resistant *Trichophyton mentagrophytes* type VIII locally and globally. *J Fungi*, 2021, 7, p. 419.
42. ŠVARCOVÁ, M., VĚTROVSKÝ, T., KOLAŘÍK, M. et al. Defining the relationship between phylogeny, clinical manifestation, and phenotype for *Trichophyton mentagrophytes/interdigitale* complex; a literature review and taxonomic recommendations. *Med Mycol*, 2023, 61, p. myad042.
43. TAGHIPOUR, S., SHAMSIZADEH, F., PCHELIN, I. M. et al. Emergence of terbinafine resistant *Trichophyton mentagrophytes* in Iran, harboring mutations in the squalene epoxidase (SQLE) gene. *Infect Drug Resist*, 2020, p. 845–850.
44. UHRLAß, S., VERMA, S. B., GRÄSER, Y. et al. *Trichophyton indotineae*—An emerging pathogen causing recalcitrant dermatophytoses in India and worldwide – a multidimensional perspective. *J Fungi*, 2022, 8, p. 757.
45. VERMA, S. B., VASANI, R. Male genital dermatophytosis—Clinical features and the effects of the misuse of topical steroids and steroid combinations—An alarming problem in India. *Mycoses*, 2016, 59, p. 606–614.
46. YAMADA, T., MAEDA, M., ALSHAHNI, M. M. et al. Terbinafine resistance of *Trichophyton* clinical isolates caused by specific point mutations in the squalene epoxidase gene. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61, p. e00115–17.
47. ZHANG, Y., RAO, R. Beyond ergosterol: linking pH to antifungal mechanisms. *Virulence*, 2010, 1, p. 551–554.
48. ZONIOS, D. I., BENNETT, J. E. Update on azole antifungals. *Published by Thieme Medical Publishers*, 2008. 29 p. 198–210.

Poděkování

Studie byla podpořena projektem Ministerstva zdravotnictví ČR (grant NU21-05-00681), projektem Strategie AV21 ,VP33 Houby kolem nás i v nás' Akademie věd ČR a projektem dlouhodobého rozvoje výzkumu Akademie věd ČR (RVO: 61388971). Za pomoc s grafickými úpravami obrázků děkujeme Janu Karhanovi. Za pomoc v laboratoři děkujeme Lence Zídkové a Kateřině Glässnerové.

Prohlášení o střetu zájmů

Autoři v souvislosti s tématem práce v posledních 12 měsících nespolupracovali s žádnou farmaceutickou firmou.

Do redakce došlo dne 29. 8. 2024.

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Mgr. Vít Hubka, Ph.D.

Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta UK
Benátská 2
128 00 Praha 2
e-mail: vit.hubka@gmail.com

EDIČNÍ PLÁN

Česko-slovenská dermatologie, 99. ročník, rok 2024
Číslo 6: Dětská dermatologie

Česko-slovenská dermatologie, 100. ročník, rok 2025
Číslo 1: Morsus insecti
Číslo 2: Psoriáza, systémový zánět
Číslo 3: Potravinové alergie