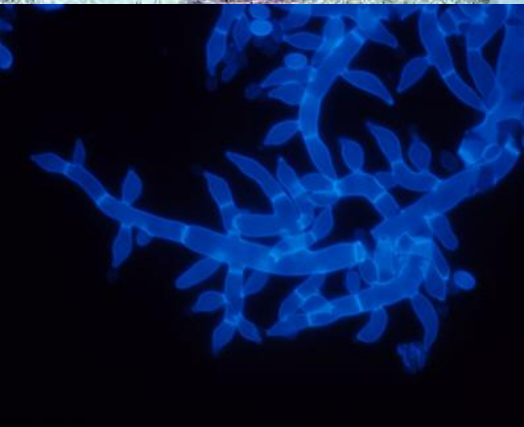
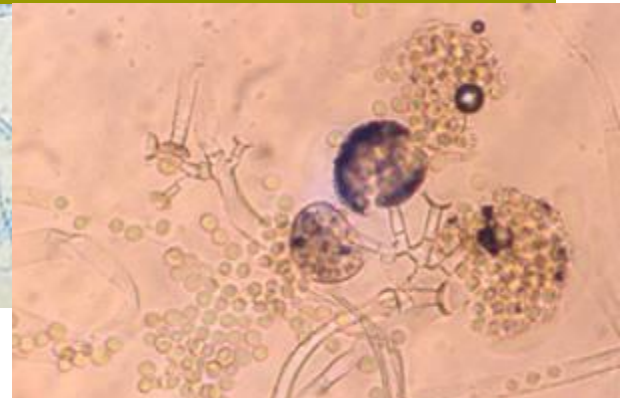
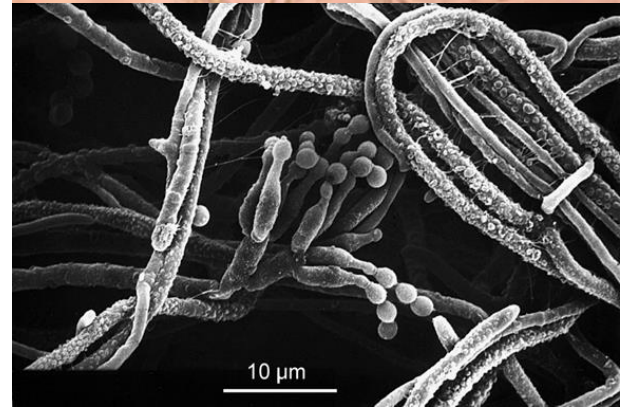


# A molekuláris genetikai módszerek helye, jelentősége a mikológiai diagnosztikában



**Dr. Kredics László**  
**SZTE TTK**  
**Mikrobiológai Tanszék**



# **Invazív mikózisok: Folyamatosan növekvő esetszám**

---

- ✿ A rizikócsoportokba sorolható személyek száma nő**
- ✿ Jobb kimutatási módszerek**
- ✿ Szervátültetésben alkalmazott módszerek fejlődése**
- ✿ Új immunszuppresszív hatóanyagok**
- ✿ Antimikrobiális szerek használata a kórmegelőzésben**
- ✿ Antifungális szerekkel szemben rezisztens fajok, törzsek jelennek meg (a legtöbb „emerging” fajnál ez tapasztalható)**

# Humán patogén fonalaszombák

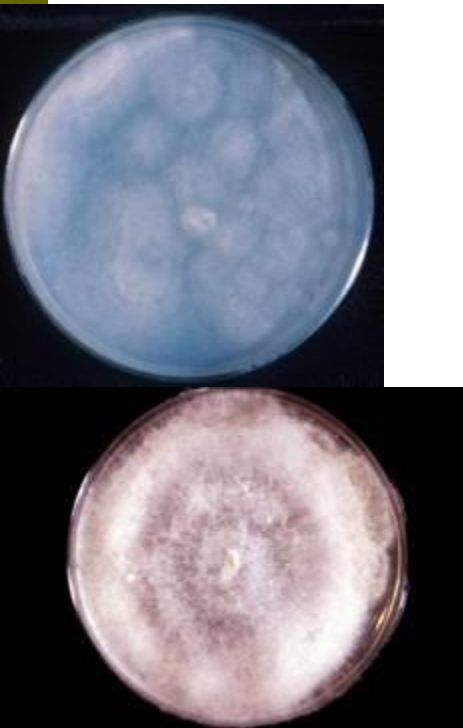
---

- Predomináns etiológiai ágens
  - *Aspergillus spp.*

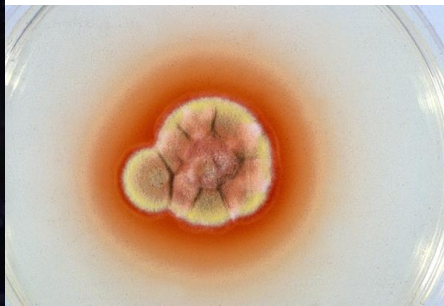
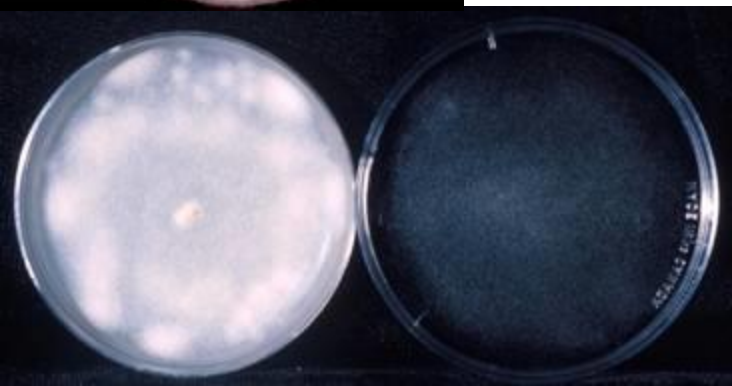
- Felbukkanó („emerging”) fonalaszombák
  - Járomspórás gombák
  - *Trichoderma spp.*
  - *Fusarium spp.*
  - *Penicillium marneffeii*
  - *Scedosporium spp.*

# Klasszikus diagnosztika problémái

---



- Makromorfológia alapján történő azonosítás nehézkes
- A mikromorfológiai jellegzetességek gyakran csak hosszú idő után jelentkeznek
- Molekuláris módszerek alkalmazása (diagnosztika, taxonómia, epidemiológia)



# Fungi

---

- Divisio: *Zygomycota*
  - *Entomophthorales* rend
  - *Mucorales* rend
- Divisio: *Ascomycota*
  - *Hypocreales* rend
  - *Eurotiales* rend
  - *Microascales* rend

# ZIGOMIKÓZIS

## Klinikai manifesztáció

---

### I. RHINOCEREBRÁLIS (67% mortalitás)

- ▣ Érintett lehet: orr, paranazális szinuszok, szem, agy, agyhártya

### II. PULMONÁRIS (83% mortalitás)

- ▣ Pulmonáris léziók, parenchimális nekrozis

### III. KUTÁN (16% mortalitás)

- ▣ Égést, vagy sebészeti beavatkozást követő bőrfertőzés

### IV. GASZTROINTESTINÁLIS (100% mortalitás)

### V. DISSZEMINÁLT (100% mortalitás)

# Fungi

---

- **Divisio: *Zygomycota***
  - *Entomophthorales* rend
  - ***Mucorales* rend**
- **Divisio: *Ascomycota***
  - *Hypocreales* rend
  - *Eurotiales* rend
  - *Microascales* rend

# *Mucorales* rend

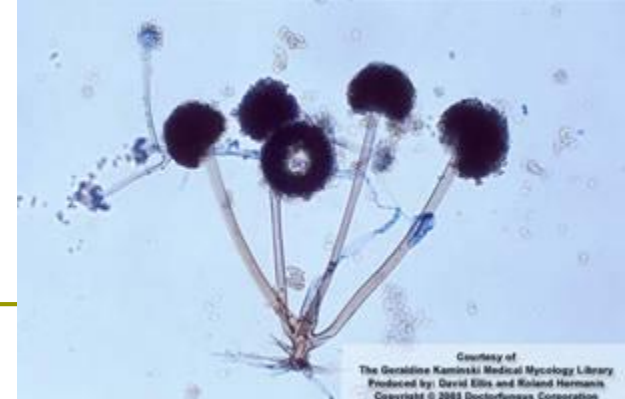
---

- Hagyományosan *Rhizopus oryzae*, *R. microsporus*
- Egyéb fajok növekvő számban: *Actinomucor*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Absidia*, *Syncephalastrum*, *Saksanea*, *Apophysomyces*, *Cunninghamella* nemzetségek
- Forrás: talaj, növényi anyagok, romló élelmiszerek
- Prediszponáló tényezők: égési sérülések, leukémia, immunszuppresszió, diabetikus ketoacidózis, művesekezelés
- Halálozás 75-99% alapteregségtől és a fertőzés módjától függően



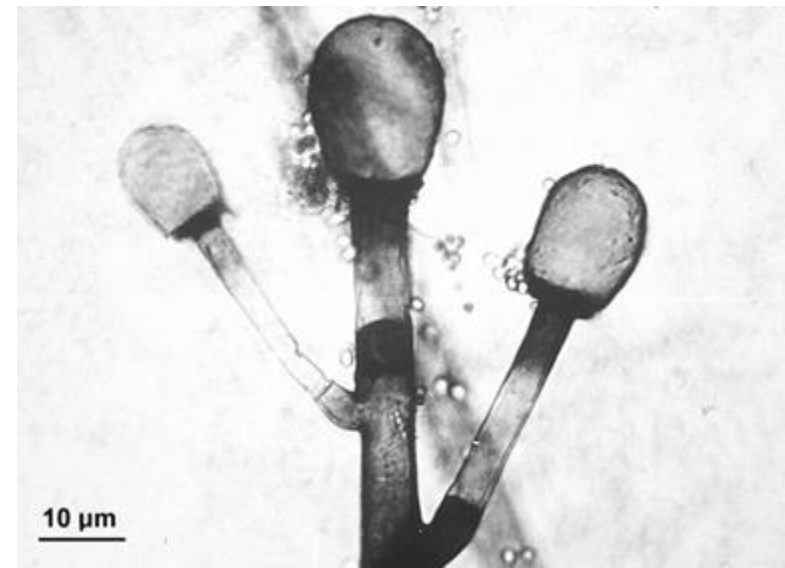
# *Rhizopus* spp.

- **Betegségek: gasztrointesztinális, pulmonáris, disszeminált, rhinocerebrális fertőzések**
- **Antifungális terápia (amphotericin B), sebészeti beavatkozás**



# *Rhizomucor pusillus*

- **Betegségek: kután, pulmonáris, rhinofaciális és disszeminált zigomikózisok főként neutropéniás betegekben**
- **Antifungális terápia (amphotericin B), sebészeti beavatkozás**



# *Apophysomyces elegans*

- ❑ **Forrás:** talaj, lebomló növényi részek
- ❑ **Betegségek:** poszttraumás fertőzések immunkompetens betegeknél
- ❑ **Terápia:** amphotericin B



**Égési sérülés után  
kialakult szubkután  
léziók (ausztrál őslakos)**



# Apophysomyces elegans

| Beteg kora (év)/neme (M/F) | Prediszponáló betegség  | Fertőzött testrész                 | Sérülés         | Hely         |  |
|----------------------------|-------------------------|------------------------------------|-----------------|--------------|--|
| 49/F                       | Diabetes mellitus       | Láb                                | Kis trauma      | Arizona      |  |
| 56/M                       | Nincs                   | Vesehúgyhólyag                     | N/A             | Texas        |  |
| 45/M                       | Nincs                   | Boka                               | Égés            | Ausztrália   |  |
| 38/M                       | Nincs                   | Kar, láb                           | Elesés          | Texas        |  |
| 59/M                       | Nincs                   | Váll                               | Harapás/fullánk | Florida      |  |
| 27/M                       | Nincs                   | Has, comb, herék                   | Műtét           | India        |  |
| 31/M                       | Nincs                   | Hát, tüdők, aorta, csigolyák       | Motorbaleset    | Texas        |  |
| 29/M                       | Nincs                   | Bal vese                           | Motorbaleset    | Texas        |  |
| 70/M                       | Nincs                   | Mellkas                            | Trauma          | Florida      |  |
| 69/M                       | Nincs                   | Kar, váll                          | N/A             | Karib-térség |  |
| 19/M                       | Nincs                   | Szem, szájpdlás, sinusok           | Elesés          | Mexikó       |  |
| 50/M                       | Veseátültetés           | Alkar                              | Elesés          | Oklahoma     |  |
| 30/F                       | N/A                     | Arm                                | Injekció        | India        |  |
| 32/F                       | Nincs                   | Hasfal                             | Műtét           | India        |  |
| 6/M                        | Nincs                   | Medence, hát, vese, hasnyálmirigy, | Motorbaleset    | Mexikó       |  |
| 55/M                       | Alkoholizmus, cirrhosis | Térd                               | Elesés          | Texas        |  |
| 59/M                       | Nincs                   | Szem, sinusok                      | Traumás sérülés | Ausztrália   |  |
| 29/M                       | Nincs                   | Láb                                | Motorbaleset    | Florida      |  |
|                            |                         |                                    |                 |              |  |

# Zygomycota kórokozók diagnosztikája

---

- **Klinikai azonosítás gyakran csak „zygomycosis”, „mucormycosis”**
- **rDNS nagy alegység D2 domén szekvenciaanalízise (Hall és mtsai. 2004)**
  - **MicroSeq D2 Large-Subunit Ribosomal DNA Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)**
  - **PCR, cycle sequencing, azonosító szoftver, szekvencia adatbázis**
  - ***Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Zygorhynchus, Cokeromyces, Syncephalastrum***
- **Hibridizációs próbák *Mucor* és *Rhizomucor* 18S rDNS-ére (Wu és mtsai. 2003)**
- **28S rRNS gén szekvenciái alapján 13 klinikai Zygomycota taxonra specifikus primerpár (Voigt és mtsai. 1999)**

## Phylogeny and PCR Identification of Clinically Important Zygomycetes Based on Nuclear Ribosomal-DNA Sequence Data

KERSTIN VOIGT,\* ELIZABETH CIGELNIK, AND KERRY O'DONNELL

| PCR primer pair (5' to 3')                                     | Zygomycetes species identified   | Size of PCR product (bp) |
|--|--|--------------------------|
| Ad1 (ATCATGCGTTTGCCCTTTAGC)<br>Ad2 (CTAAGCGAGAAAAAGAGAAAC)     | <i>Absidia coerulea</i>  | 477                      |
| Acy1 (CGGATTGTAAACTAAAGAGCG)<br>Acy2 (CCAAAGTAGATTACAGTTCTAG)  | <i>Absidia corymbifera</i>   | 577                      |
| Ap1 (GAATTGTAAACTTTAGAGTCGTTG)<br>Ap2 (TGAACCACAGTATTTTCGCGAA) | <i>Apophysomyces elegans</i>   | 453                      |
| Ba1 (AAAATCTGTAAAGGTTCAACCTTG)<br>Ba2 (TGCAGGAGAAGTACATCCGC)   | <i>Basidiobolus haptosporus</i><br><i>Basidiobolus ranarum</i>   | 651                      |
| Cc1 (TCTCTTAACTTGCTTCTATGCC)<br>Cc2 (CTTTAATTAAGCTAATCAACATG)  | <i>Conidiobolus coronatus</i>  | 419                      |
| Cr1 (GTGAGAATCCCGTGAATTCAC)<br>Cr2 (CAAAGCACTCAACTATTTTCGC)    | <i>Cokeromyces recurvatus</i>  | 434                      |
| Cu1 GGATTGTAAACTAAAGTTTTTC<br>Cu2 AAATTCTCTAATTATTCCTC         | <i>Cunninghamella bertholletiae</i><br><i>Cunninghamella elegans</i><br><i>Cunninghamella polymorpha</i> | 521                      |
| Mc1 ATTTTCCTGGCACACCAGATT<br>Mc2 GCGAATAAAAAATATACTAGATGT      | <i>Mucor circinelloides</i><br><i>Mucor ramosissimus</i>   | 538                      |
| Mp1 TGGCCGGTTTACTGGTCCGAA<br>Mp2 CGAGTATAAAAAGGACACGGC         | <i>Monterella polycephala</i>  | 618                      |
| Rh1 TTTTCCAGGCAAGCCGGACCG<br>Rh2 TATTCCCAGCCAACCTCGCCAAAT      | <i>Rhizopus azygosporus</i><br><i>Rhizopus microsporus</i>   | 469                      |
| Ro1 AGCATTGCTTTTGTGATACGC<br>Ro2 ACCGTAGTACCTCAGAAAACC         | <i>Rhizopus oryzae</i>   | 413                      |
| Rm1 TCTATTGCGATGCATGCTCC<br>Rm2 GGTCTCTTTAGACTCCAAAGC          | <i>Rhizomucor miehei</i><br><i>Rhizomucor pusillus</i>   | 305                      |
| Sv1 CTTTGGCTTGAGCATTGGAC<br>Sv2 AGACTAAATCAATGACTTCTGG         | <i>Saksenaia vasiformis</i>  | 433                      |

# Járomspórás gombák molekuláris tipizálása

REVIEW ARTICLE

Molecular characterization of opportunistic pathogenic  
zygomycetes

László Galgóczy\*

Department of Microbiology, Faculty of Sciences, University of Szeged, Szeged, Hungary

- rDNS szekvenciák elemzése
  - filogenetikai kapcsolatok vizsgálata a Mucorales és Entomophthorales rendeken belül
- ITS RFLP
  - *Rhizomucor* izolátumok taxonómiai helyzetének vizsgálata
  - *Apophysomyces elegans* elkülönítése más klinikai szempontból releváns járomspórás gombáktól
  - *Cunninghamella echinulata* és *C. bertholletiae* elkülönítése (ITS RFLP + PCR fingerprinting)
- PFGE kariotipizálás
  - *Mucor circinelloides*, *M. bainieri*, *M. mucedo*, *M. plumbeus*, *M. racemosus*, *Parasitella parasitica*, *Micromucor* sp.
- RAPD
  - *P. parasitica*, *M. piriformis*, *M. genevensis*, *Gilbertella persicaria*, *Rhizomucor miehei*, *R. pusillus*, *Rhizopus stolonifer*, *R. oryzae*

# Fungi

---

- Divisio: *Zygomycota*
  - *Entomophthorales* rend
  - *Mucorales* rend
- **Divisio: *Ascomycota***
  - ***Hypocreales* rend**
  - *Eurotiales* rend
  - *Microascales* rend
  - *Chaetothyriales* rend
  - *Dothideales* rend

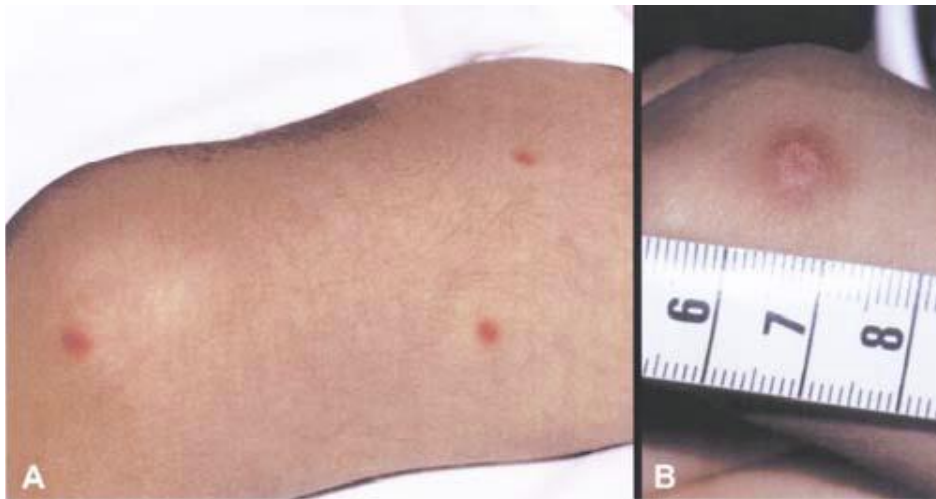
# *Fusarium* spp.

- ❑ **Forrás:** Talaj, elhalt növényi részek (növénypatogén, raktári kártevő fajok, mikotoxintermelés)
- ❑ **Betegségek:** Felszíni és szisztémás mikózisok
  - Keratitis, endophthalmitis, sinusitis, otitis media, onychomikózis, kután fertőzések égési sérülések következtében, tüdőmikózis, endocarditis, peritonitis, disszeminált fertőzések
- ❑ **Legvirulensebb képviselő:** *Fusarium solani*, széleskörű rezisztenciát mutat antifungális szerekkel szemben
- ❑ **magas mortalitás (akár 80%)**



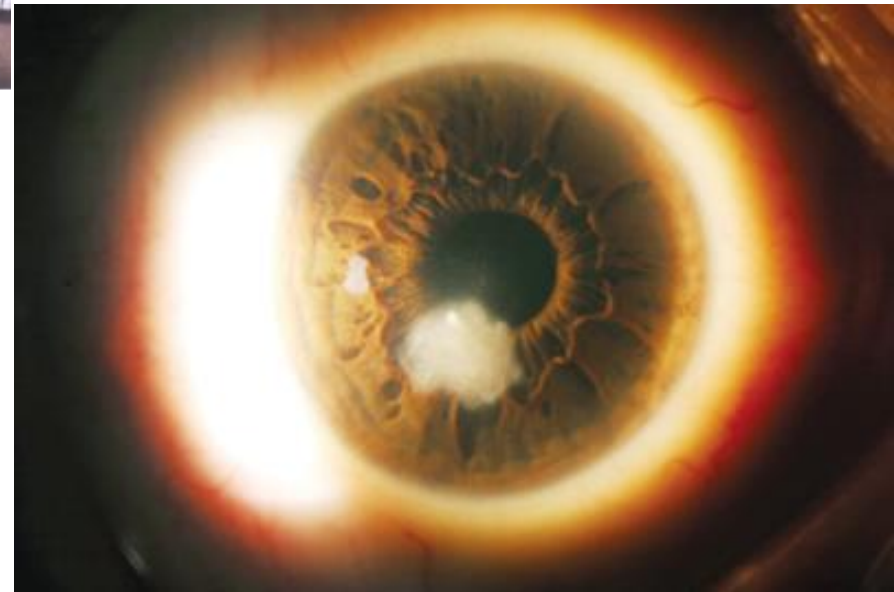


# Fusariosis klinikai manifesztációja



Disszeminált *F. oxysporum* fertőzés jellegzetes bőrléziói (makulák, papulák, szubkután csomók nekrotikus udvarral)

*Fusarium* keratitis



# *Fusarium keratitis*

---

- ❑ Fejlődő országok (India, Kína, Nigéria, Tanzánia, Paraguay)
- ❑ Európában, USA-ban ritka
- ❑ Bizonyos területeken predomináns (klímafüggő)
- ❑ Leggyakoribb etiológiai ágens a nemzetségben belül: *F. solani*
- ❑ Rizikócsoport: mezőgazdasági dolgozók
- ❑ Prediszponáló tényezők:
  - Trauma (faág, tűske, pálmalevél, magvak, rovarok, por, talaj, kő, üveg, fém, macskakarmolás, kakas csőre, tehén farka, stb...)
  - Topikális kortikoszteroidok
  - Korábbi szembetegség, szemműtét
  - Szisztémás betegségek, pl. diabetes mellitus
  - HIV pozitivitás
  - Kontaktlencse viselése
- ❑ Terápia: topikális natamycin, szisztémás ketokonazol, keratoplasztika

# *Fusarium keratitis*

| Geographical location          | Time period                   | Total number of mycotic keratitis cases | Number of cases caused by <i>Fusarium</i> spp. |
|--------------------------------|-------------------------------|---|--|
| Bangladesh                     | 11 months                     | 51                                      | 10 (19.6%)                                     |
| Bangladesh                     | Unknown                       | 63                                      | 22 (34.9%)                                     |
| China, Beijing (north)         | January 1995 to October 2000  | 498                                     | 321 (64.5%)                                    |
| China, Zhengzhou (central)     | January 1975 to June 1997     | 615                                     | NA (65.0%)                                     |
| China, Shijiazhuang (north)    |                               |   | NA (33.3%)                                     |
| China, Guangzhou (south)       |                               |   | NA (39.2%)                                     |
| China, Qingdao (north)         | 4 years                       | 97                                      | 63 (64.9%)                                     |
| France, Paris                  | January 1993 to January 2001  | 19                                      | 4 (21.1%)                                      |
| Ghana, Accra (south)           | June 1999 to May 2001         | 43                                      | 27 (62.8%)                                     |
| Ghana (Ashanti and upper east) | June 1999 to May 2001         | 48                                      | 15 (31.3%)                                     |
| India, Tiruchirapalli (south)  | June 1999 to May 2001         | 353                                     | 141 (39.9%)                                    |
| India, Chandigarh (north)      | 6 years                       | 61                                      | 10 (16.4%)                                     |
| India, Hyderabad (south)       | January 1991 to December 2000 | 1360                                    | 506 (37.2%)                                    |
| India, Madurai (south)         | January 1994 to March 1994    | 155                                     | 73 (47.1%)                                     |
| India, Madras (south)          | 1980–1982                     | 68                                      | 8 (11.8%)                                      |
| India, New Delhi (north)       | 5 years                       | 211                                     | 30 (14.2%)                                     |
| India, Patna (east)            | 2 years                       | 76                                      | 6 (7.9%)                                       |
| India, Tiruchirapalli (south)  | July 1985 to November 1985    | 40                                      | 19 (47.5%)                                     |
| India, Mumbai (west)           | 1988–1996                     | 367                                     | 33 (9.0%)                                      |
| Nepal                          | 1985–1987                     | 68                                      | 8 (11.8%)                                      |
| Nigeria                        | 1974–1977                     | 42                                      | 15 (35.7%)                                     |
| Paraguay                       | April 1988 to April 1989      | 26                                      | 11 (42.3%)                                     |
| Singapore                      | January 1991 to December 1995 | 29                                      | 15 (51.7%)                                     |
| Tanzania                       | October 1994 to October 1995  | 32                                      | 24 (75.0%)                                     |
| Thailand (central)             | January 1988 to December 2000 | 35                                      | 12 (34.3%)                                     |
| USA, Pennsylvania              | January 1991 to March 1999    | 24                                      | 6 (25.0%)                                      |
| USA, south Florida             | January 1982 to January 1992  | 125                                     | 79 (63.2%)                                     |

NA, specific data not available.

# Klinikai *Fusarium* izolátumok diagnosztikája

---

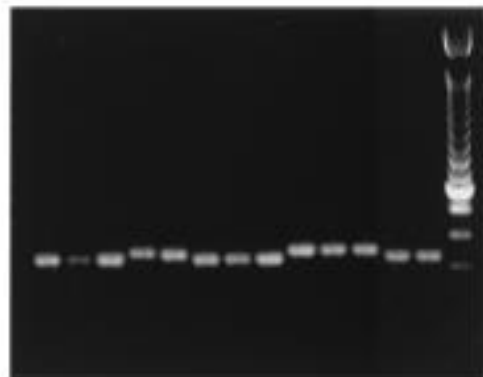
- 28S rDNS 480 bp-os fragmentjének szekvenciaanalízise 3 napos tenyészetből, *F. dimerum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* azonosítására (Hennequin és mtsai. 1999)
- *In situ* hibidizáció rDNS szekvenciákra specifikus próbákkal *Fusarium*, *Pseudallescheria* és *Aspergillus* törzsek gyors elkülönítésére szövetmintákban (Hayden és mtsai. 2003)
- MicroSeq D2 Large-Subunit Ribosomal DNA Sequencing Kit (Hall és mtsai. 2004): *F. solani*, *F. chlamydosporum*, *F. verticillioides*
- rDNS-alapú primerpár *Fusarium* izolátumok más, klinikai szempontból releváns fajoktól történő elkülönítésére, (szövetmintákból, vérből is) specifikus primerpárok tervezése RAPD termékek szekvenciája alapján (Hue és mtsai 1999)

## Specific Detection of *Fusarium* Species in Blood and Tissues by a PCR Technique

FRANCOIS-XAVIER HUE,<sup>1\*</sup> MICHEL HUERRE,<sup>2</sup> MARIE ANGE ROUFFAULT,<sup>1</sup>  
 AND CLAUDE DE BIEVRE<sup>1</sup>

| Primer           | Sequence (5'-3')   | Specificity  |   | Annealing temp (°C) |
|------------------|--|--|---|---------------------|
|                  |  | Positive PCR result  | Negative PCR result   |                     |
| OX 31<br>OX 32   | TGA CTT GGA TGA GAC CTT GGC G<br>CAG GAT TTA CCG ACA CAG CTT TTG | <i>F. oxysporum</i> 95, 82, and 9026   | <i>F. moniliforme</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. oxysporum</i> IP 625.72, <i>F. proliferatum</i> , <i>F. dimerum</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. semitectum</i> , and <i>F. chlamyosporum</i>  | 66                  |
| OX 41<br>OX 42   | GTA GGA AAA ACA ATT GCT CAG TCG<br>AAG AGA GTG TGT AGT GGT GTG G | <i>F. oxysporum</i> 9582 and IP 625.72   | <i>F. moniliforme</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. oxysporum</i> 9026, <i>F. proliferatum</i> , <i>F. dimerum</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. semitectum</i> , and <i>F. chlamyosporum</i>       | 66                  |
| OX 1<br>OX 2     | GTC ACG ACA TTT TCA CAA GCT G<br>GGT CTC TCG ATA ACT TTG ACA G   | <i>F. moniliforme</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. proliferatum</i> IP 2240.94, and <i>F. subglutinans</i>          | <i>F. solani</i> , <i>F. proliferatum</i> IP 2290.94, IP 2296.95, and 68G, <i>F. dimerum</i> , <i>F. chlamyosporum</i> , and <i>F. semitectum</i>   | 63                  |
| SOL 31<br>SOL 32 | GCT ACC GAG GCC ATC AAT TCA TG<br>TGA TGT TGT ACT TCT CCT TGC CC | <i>F. solani</i> IP 2451.98, IP 1195.79, and IP 2330.95  | <i>F. moniliforme</i> , <i>F. solani</i> IP 1984.87, <i>F. oxysporum</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. semitectum</i> , <i>F. dimerum</i> , and <i>F. chlamyosporum</i> | 62                  |
| MON 1<br>MON 2   | GAG AGC TGG ATG TAC GAA TG<br>CAC AGA GAT GGT TCA CTG AG         | <i>F. moniliforme</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. subglutinans</i> , and <i>F. proliferatum</i> | <i>F. semitectum</i> , <i>F. dimerum</i> , and <i>F. chlamyosporum</i>  | 60                  |

A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 M



— 300 bp

B 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 T- M



— 329 bp

### P58SL és P28SL primerek

- (A) 1, *F. moniliforme* IP 1579.85; 2, *F. moniliforme* IP 233.95; 3, *F. solani* IP 2330.95; 4, *F. solani* IP 2447.97; 5, *F. solani* IP 2451.98; 6, *F. oxysporum* 9582; 7, *F. oxysporum* IP 625.72; 8, *F. oxysporum* 9026; 9, *F. proliferatum* 68G; 10, *F. dimerum* IP 1516.83; 11, *F. semitectum* 2239; 12, *F. subglutinans* 2241; 13, *F. nivale* 2238.
- (B) 1, *Candida albicans*; 2, *Cryptococcus neoformans*; 3, *Penicillium purpurogenum*; 4, *Aspergillus fumigatus*; 5, *Acremonium strictum*; 6, *Trischoporon cutaneum*; 7, *Malassezia furfur*; 8, *Exophiala jeanselmei*; 9, *Trichophyton rubrum*; 10, *Alternaria alternata*; 11, *Aspergillus flavus*; 12, *Neocosmospora vasinfecta*; 13, *F. solani* IP 1681.87; T2, negative control. M, 100-bp mólsúlymarker.

# Klinikai *Fusarium* izolátumok molekuláris tipizálása

---

- **Epidemiológia: kórházi fusariosis és a kórházi vízvezetékek *Fusarium*ok általi kolonizációjának lehetséges kapcsolata:**
  - **RAPD, RFLP, interrepeat (IR) PCR: 2 betegben környezeti izolátumokkal azonos genotípusú *F. solani* törzs, bizonyos betegpárokból megegyező genotípusú törzs (Anaissie és mtsai. 2001)**
  - **RAPD: nincs egyezés a betegekből és a vízmintákból izolált törzsek között, a fertőzés forrása valószínűleg a külső környezet (Raad és mtsai.2002)**
  - **Betegek esetleg kontaminálhatják a vízvezetékrendszert**

# *Neocosmospora vasinfecta*

- Növénypatogén gomba (gyapot, dinnye, borsó)
- Trópusi, szubtrópusi területeken elterjedt
- Forrás: talaj, gyapotnövény (rizikófaktor)
- Betegség: 5 ismert eset
  - granuloma lábon veseátültetett betegben
  - poszttraumás osteoarthritiss immunokompetens betegben
  - fatális disszeminált fertőzés leukémiás betegben
  - égés utáni fertőzés gyermekben
  - poszttraumás szaruhártyafekély (keratomikózis)

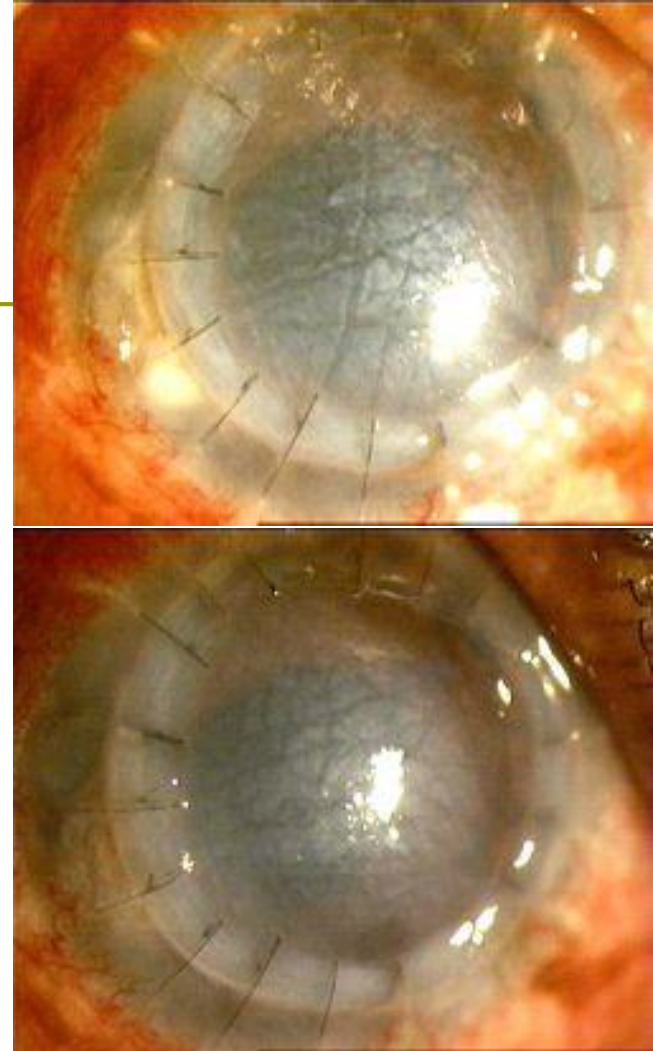


# ***Neocosmospora vasinfecta*** ***keratitis***

---

- poszttraumás szaruhártyafekély (keratomikózis)
- topikális natamicin-kezelésre, majd szisztémás ketokonazolra nem reagált
- Keratoplasztika
- posztoperatív beszűrődés
- amphotericin B + clotrimazol

**Probléma: *Fusarium*-hoz hasonló klinikai manifesztáció nehezíti az azonosítást, natamycin-rezisztencia**





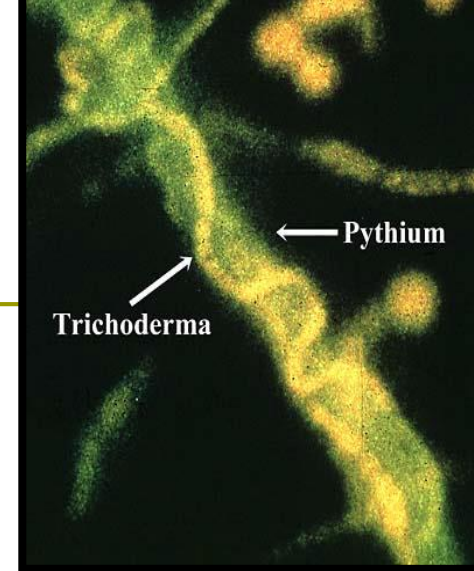
# *Neocosmospora vasinfecta* ITS-alapú azonosítása

Keratomikózisból izolált fonalgomba 472 bp-os ITS szekvenciájához leginkább hasonlító GenBank szekvenciák

| GenBank azonosító | Törzs                           | Azonos bázisok száma | Szekvencia-hasonlóság (%) |
|-------------------|---------------------------------|----------------------|---------------------------|
| L36627            | <i>N. vasinfecta</i> NRRL 22166 | 472                  | 100                       |
| AY381142          | <i>N. vasinfecta</i> NRRL22497  | 472                  | 100                       |
| AY381143          | <i>N. vasinfecta</i> NRRL22500  | 471                  | 99.79                     |
| AY381140          | <i>N. vasinfecta</i> NRRL22499  | 471                  | 99.79                     |
| AY381139          | <i>N. vasinfecta</i> NRRL34174  | 471                  | 99.79                     |
| AY381138          | <i>N. vasinfecta</i> NRRL22436  | 470                  | 99.58                     |
| AY381141          | <i>N. vasinfecta</i> NRRL22423  | 469                  | 99.36                     |
| DQ094720          | <i>F. solani</i> FRC#s850       | 467                  | 98.73                     |

# Trichoderma nemzetség

- **Ökológiai szerep:** elhalt növényi részek lebontása a talajban
- **Biotechnológiai jelentőség:** cellulózbontás (*T. reesei*)
- **Mezőgazdasági alkalmazás:** biológiai növényvédelem - növénypatogén gombákkal szemben (kompetíció, mikoparazitizmus, antibiózis)
- **Kártétel a gombatermesztésben:** „zöldpenész”
- **Klinikai jelentőség:** opportunista fertőzések immunszuprimált betegekben



# A *Trichoderma* nemzetség klinikai jelentősége

---

## A Legfontosabb rizikócsoportok:

- immunszuprimált szervátültetettek
- HIV fertőzöttek
- peritoneálisan dializált betegek

## Dokumentált esetek száma:

- 60 körül
- évről évre nő

*Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 50 (2–3), pp. 105–117 (2003)

## Review:

### CLINICAL IMPORTANCE OF THE GENUS *TRICHODERMA*

A REVIEW\*

L. KREDICS<sup>1</sup>, ZSUZSANNA ANTAL<sup>1</sup>, ILONA DÓCZI<sup>2</sup>, L. MANCZINGER<sup>3</sup>,  
F. KEVEI<sup>3</sup> AND ELISABETH NAGY<sup>1,2</sup>

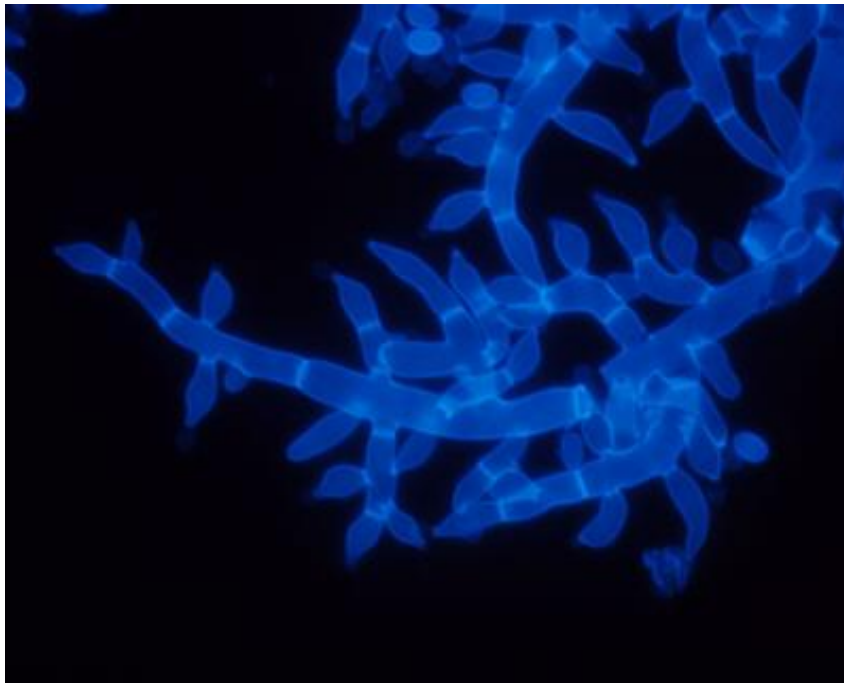
# Trichoderma fertőzésekről tudósító esetleírások a szakirodalomban

| Kor/Nem | Klinikai diagnózis             | Izolátum forrása                     | Etiológia                 | Terápia                  | Kimenetel | Irodalom                          |
|---------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------------------|
| 82/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék                | <i>T. harzianum</i>       | K, 5FC                   | Halálos   | Guiserix és mtsai. 1996           |
| 63/F    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék                | <i>T. koningii</i>        | Katéter eltávolítása, M  | Gyógyulás | Ragnaud és mtsai. 1984            |
| 41/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék                | <i>T. koningii</i>        | F, 5FC, AB               | Halálos   | Campos-Herrero és mtsai. 1996     |
| 48/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék, boncolás      | <i>T. longibrachiatum</i> | AB                       | Halálos   | Tanis és mtsai. 1995              |
| 33/M    | APD peritonitis                | Peritoneális folyadék                | <i>T. pseudokoningii</i>  | Katéter eltávolítása     | Gyógyulás | Rota és mtsai. 2000               |
| 47/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneum, boncolás                 | <i>T. viride</i>          | AB                       | Halálos   | Loeppky és mtsai. 1983            |
| 44/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék                | <i>T. viride</i>          | AB                       | Halálos   | Warnock és mtsai. 1991            |
| 40/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék                | <i>Trichoderma</i> sp.    | Katéter eltávolítása, AB | Halálos   | Eşel és mtsai. 2003               |
| 60/M    | CAPD peritonitis               | Peritoneális folyadék                | <i>Trichoderma</i> sp.    | Katéter eltávolítása, K  | Gyógyulás | Bren, 1998                        |
| 45/F    | TX/Tüdő- és bőrdisszemináció   | Bronchoalveoláris mosás, bőربيopszia | <i>T. pseudokoningii</i>  | F, AB, 5FC               | Halálos   | Gautheret és mtsai. 1995          |
| 29/M    | TX/Disszeminált fertőzés       | Tüdő, máj, bélfal, boncolás          | <i>T. longibrachiatum</i> | AB, I, liposzomás AB     | Halálos   | Richter és mtsai. 1999            |
| 44/F    | TX/Abdominális disszemináció   | Abdominális folyadék, hematóma       | <i>T. viride</i>          | Sebészet, AB, F          | Halálos   | Jacobs és mtsai. 1992             |
| 29/F    | TX/Sinusitis                   | Ethmoidális és maxilláris sinusok    | <i>T. longibrachiatum</i> | Sebészet, AB, I          | Gyógyulás | Furukawa és mtsai. 1998           |
| 68/M    | TX/Disszeminált fertőzés       | Agyi- és tüdőtályogok, boncolás      | <i>T. harzianum</i>       | -                        | Halálos   | Guarro és mtsai. 1999             |
| 63/F    | TX/Vesefertőzés                | Szubkapszuláris tályog a májban      | <i>T. longibrachiatum</i> | Sebészet                 | Gyógyulás | Chouaki és mtsai. 2002            |
| 11/M    | TX/Tüdődéma                    | Bronchoalveoláris mosás              | <i>T. longibrachiatum</i> | Lipid-asszociált AB      | Halálos   | Chouaki és mtsai. 2002            |
| 11/M    | Bőrfertőzés                    | Bőربيopszia                          | <i>T. longibrachiatum</i> | AB                       | Gyógyulás | Munoz és mtsai. 1997              |
| 17/F    | Agyi tályog                    | Agyi biopszia                        | <i>T. longibrachiatum</i> | Sebészet, AB, 5FC/K, I   | Gyógyulás | Seguin és mtsai. 1995             |
| 66/F    | Nekrotizáló stomatitis         | Szájnyálkahártya, tüdő               | <i>T. longibrachiatum</i> | AB, I                    | Halálos   | Myoken és mtsai. 2002             |
| 12/ND   | Külsőfülgulladás               | Fülváladék                           | <i>T. longibrachiatum</i> | Nisztatin, polimixin B   | Gyógyulás | Hennequin és mtsai. 2000          |
| 46/M    | Tüdőmicetóma                   | Köpet, tüdőbiopszia                  | <i>T. viride</i>          | Sebészet                 | NA        | Escudero és mtsai. 1976           |
| 66/M    | Endocarditis                   | Műtét                                | <i>Trichoderma</i> sp.    | NA                       | NA        | Bustamante-Labarta és mtsai. 2000 |
| 26/F    | Fungémia infúzió következtében | Vér                                  | <i>Trichoderma viride</i> | AB                       | Gyógyulás | Robertson, 1970                   |

**M = férfi, F = nő; APD = automatizált peritoneális dialízis, CAPD = krónikus ambuláns peritoneális dialízis; 5FC = 5-fluorocitozin, AB = amfotericin B, F = flukonazol, I = itrakonazol, K = ketokonazol, M = mikonazol; TX = transzplantáció; NA = nincs adat**

# *Trichoderma longibrachiatum*

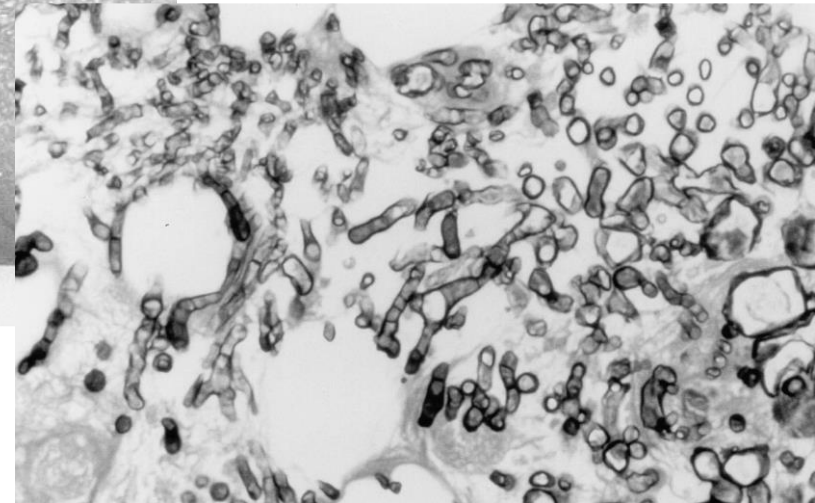
- **Forrás:** Talaj, elhalt növényi részek, épületek fala
- **Betegségek:** kután léziók, sinusitis, stomatitis, dializált betegekben peritonitis, immunszuprimált betegekben disszeminált fertőzések



# *T. longibrachiatum* által okozott bőrlézió



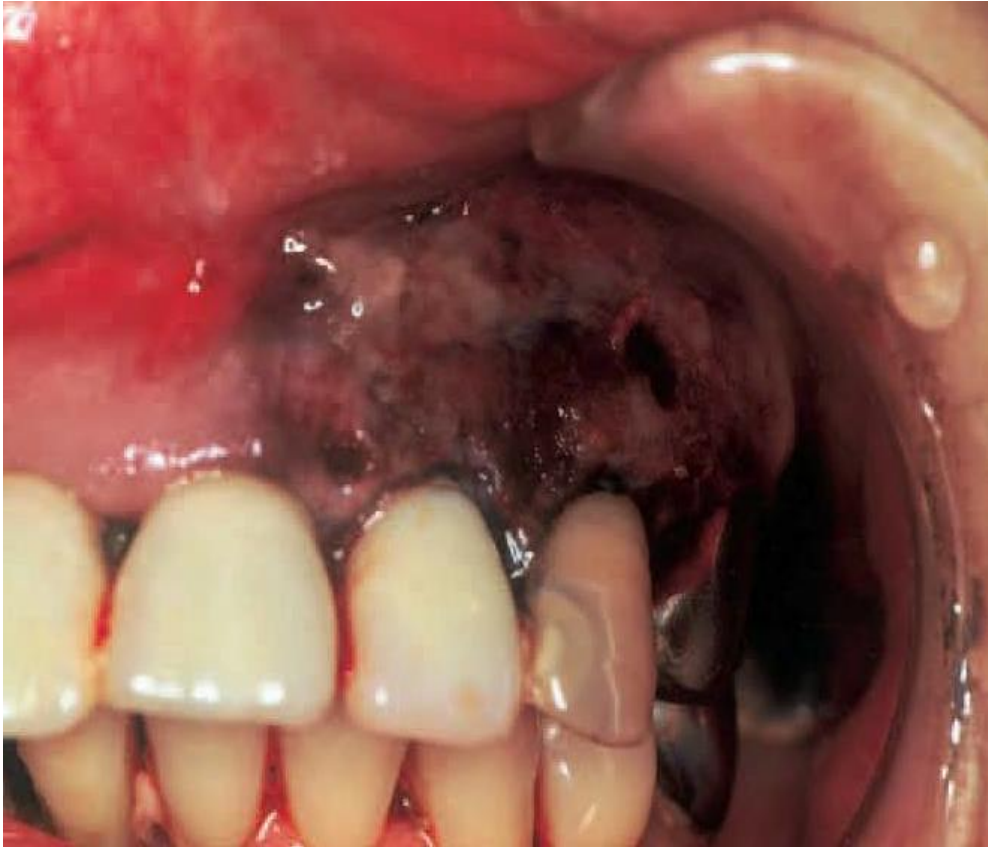
Bőrlézió anémiás  
gyermek  
könyökhajlatában  
(infúzióbemenet)



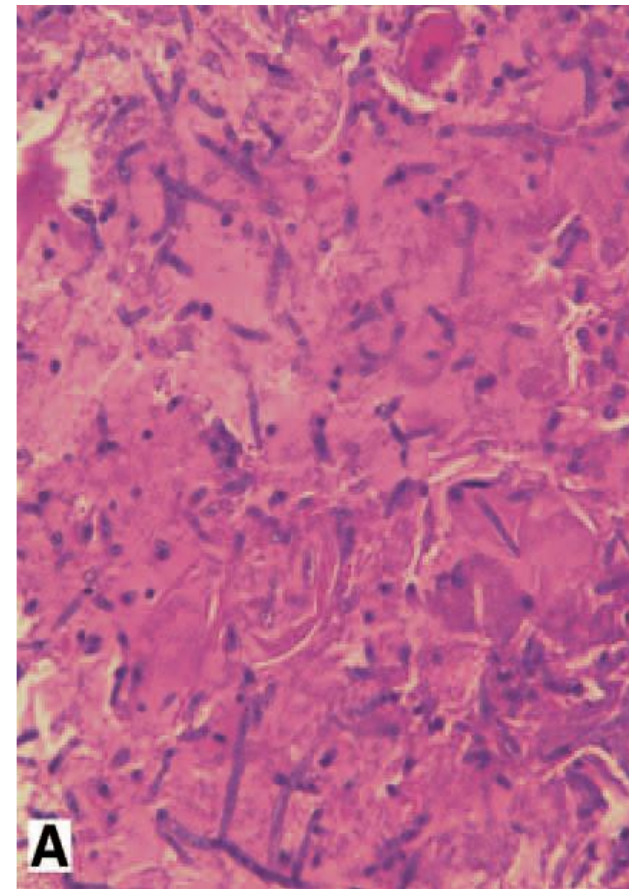
Bőrszövetből származó minta szeptált  
hifaelemekkel, 3750-szeres nagyítás.

Munoz *et al.* (1997): *J. Clin. Microbiol.* 35,  
499-503.

# *T. longibrachiatum* által okozott nekrotizáló stomatitis



Orális léziók limfómás betegben



Elágazó, szeptált hifák a nekrotizálódó ínszövetben

Myoken *et al.* (2002): *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 37, 3751-3755

# Klinikai *Trichoderma* izolátumok molekuláris diagnosztikája és taxonómiája

---

## Szekció

*Longibrachiatum*

*Pachybasium*

*Trichoderma*

## Faj

*T. longibrachiatum*

*T. citrinoviride*

*T. pseudokoningii*

*T. harzianum*

*T. viride*

*T. koningii*

Valóban ilyen sok potenciális opportunistafaj van a nemzetségben????



# Trichoderma nemzetség

## Molecular reidentification of human pathogenic *Trichoderma* isolates as *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma citrinoviride*

K. KUHLIS,\* E. LIECKFELDT,\* T. BÖRNER\* & E. GUÉHO†

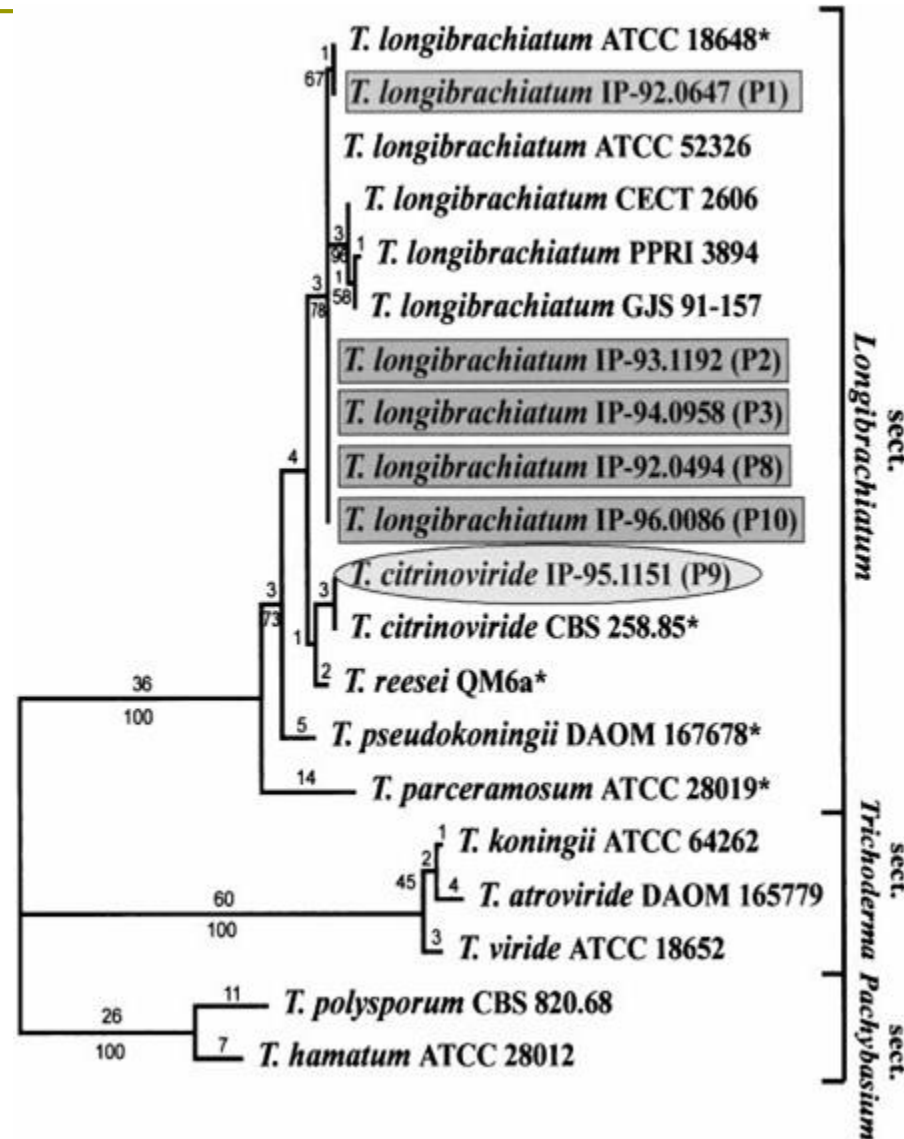
Módszerek: PCR-fingerprinting,  
ITS-szekvencia analízis

6 klinikai törzs vizsgálata:

*T. longibrachiatum*: 5

*T. citrinoviride*: 1

Klinikai *Trichoderma* törzsek  
filogenetikai helyzete a  
nemzetségben belül ITS-  
szekvenciák alapján



# Vizsgált klinikai *Trichoderma* izolátumok

| <u>Faj</u>                | <u>Törzs</u>   | <u>Izolátum forrása</u>  |
|---------------------------|--|--|
| <i>T. longibrachiatum</i> | UAMH 9515<br>ATCC 201044<br>ATCC 208859<br>CBS 446.95<br>CNM-CM 2171 | peritoneális folyadék, Kanada<br>bőrlézió, TX, USA<br>HIV+ páciens, TX, USA<br>tüdő, Bécs, Ausztria<br>bőrlézió, Spanyolország |
| <i>T. pseudokoningii</i>  | IP 2110.92<br>UAMH 7955<br>UAMH 7956                                 | agyi biopszia, Villejuif, Franciaország<br>szinusz, Pennsylvania, USA<br>tüdő, máj, bélfal, Iowa, USA                          |
| <i>T. citrinoviride</i>   | UAMH 9573  | peritoneális katéter, Kanada   |
| <i>T. koningii</i>        | CNM-CM 382   | peritoneális folyadék, Las Palmas  |
| <i>T. harzianum</i>       | CBS 102174   | agyi- és tüdőtályogok, Spanyolország   |
| <i>T. viride</i>          | CNM-CM 1798<br>CNM-CM 2277   | hemokultúra, Spanyolország<br>TBC-s beteg köpete, Spanyolország  |

Display modes:   FULL  SHORT  FASTA  **Found 1 sequence(s) in your FASTA-Query "ATCC 208859":**

Sequence quality has been checked, unwanted charactes (if any) were removed

 print:Analysing sequence: **Non-fasta\_sequence**First anchor (GSH) was found in position **55** ....Second anchor (GSH) was found in position **79** ....Third anchor (GSH) was found in position **260** ....Fourth anchor (GSH) was found in position **418** ....Fifth anchor (GSH) was found in position **512** ....Found **5** genus-specific hallmarks (Anchors):**Genus Identification:** *Hypocrea/Trichoderma*, Hypocreaceae, Hypocreales  
**Ascomycota**region 1 (11nt) was detected; region 2 (175nt) was detected; region 3 (151nt) was detected  
RNA gene was removed**Section Identification:** **Section Longibrachiatum****Species identification:** *Trichoderma longibrachiatum*  Bi**Identification reliability:** high

barcode was developed on the basis of 52 vouchered sequences which showed 2 ITS 1 and

**Species identification:** *Hypocrea orientalis*  Bi**Identification reliability:** high

barcode was developed on the basis of 52 vouchered sequences which showed 2 ITS 1 and

**BLAST IT** AGAINST *HYPOCREA/TRICHODERMA* DATABASE: [>>](#)

# ITS-szekvenciákon alapuló törzsazonosítás

## TrichOKey v. 2.0

## [www.isth.info](http://www.isth.info)

Druzhinina és mtsai  
(2005): An oligonucleotide  
barcode for species  
identification in  
*Trichoderma* and  
*Hypocrea*.  
*Fungal Genet Biol* **42**, 813-  
828.

# ITS-szekvenciákon alapuló törzsazonosítás

Szekvenciaelemzés: *TrichOkey 2.0* (<http://www.isth.info>)

---

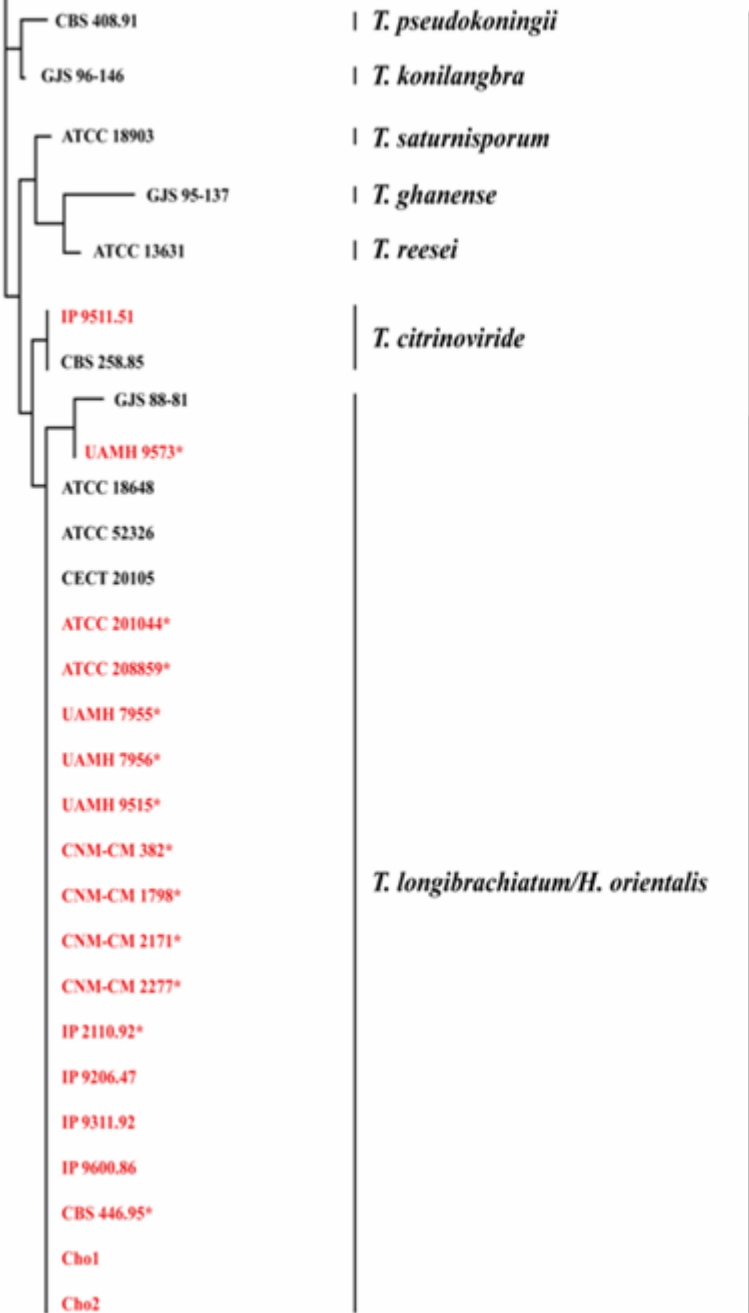
| <u>Törzs</u> | <u>Faj</u>                              | <u>Identitás</u> |
|--------------|---|------------------|
| CBS 102174   | <i>T. harzianum</i>                     | igazolt          |
| ATCC 201044  | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | igazolt          |
| ATCC 208859  | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | igazolt          |
| UAMH 9515    | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | igazolt          |
| CBS 446.95   | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | igazolt          |
| CNM-CM 2171  | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | igazolt          |
| UAMH 7955    | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |
| UAMH 7956    | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |
| IP 2110.92   | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |
| UAMH 9573    | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |
| CNM-CM 382   | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |
| CNM-CM 1798  | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |
| CNM-CM 2277  | <i>T. longibrachiatum/H. orientalis</i> | átsorolandó      |

# Klinikai *Trichoderma* törzsek taxonómiai helyzetete a nemzetségen belül ITS-szekvenciák alapján

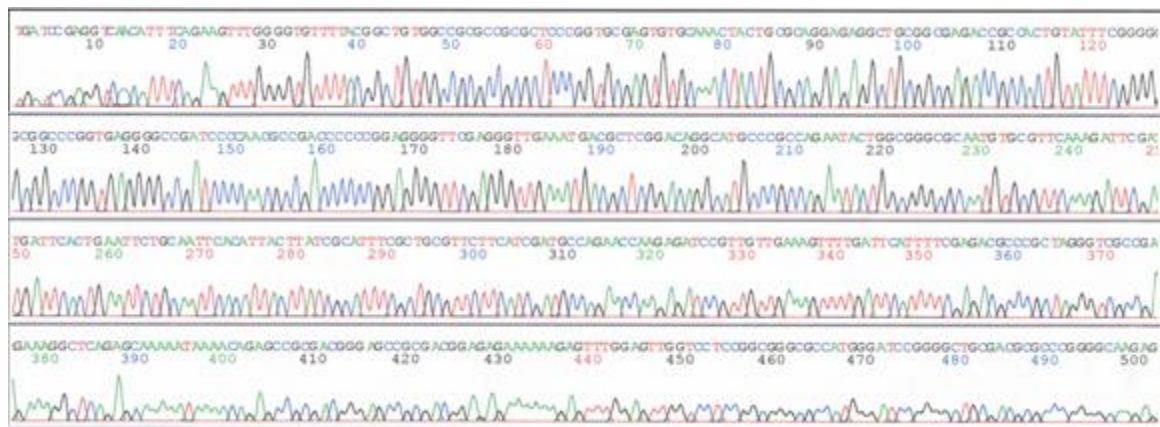
ITS 1 – 5,8 S rDNS – ITS2

Primerek: ITS1  
ITS4

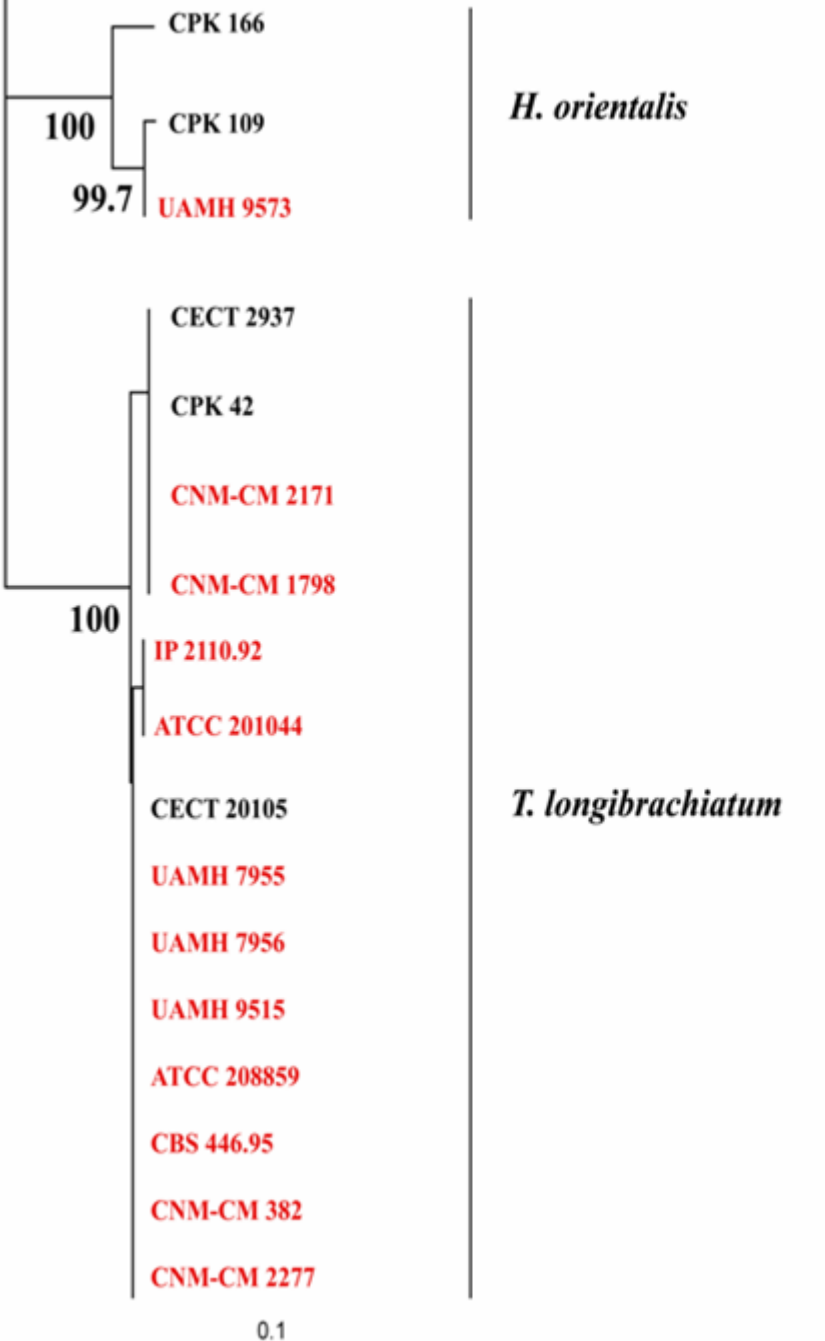
Termék: ~ 600 bp fragment



*Longibrachiatum* szekció



*T. asperellum*



# Klinikai *Trichoderma* törzsek taxonómiai helyzete a nemzetségen belül tef1 $\alpha$ -szekvenciák alapján

Transzlációs elongációs  
faktor génjének (*tef1 $\alpha$* )  
4. és 5. intronja

*Longibrachiatum* szekció

Primerek: EF1-728F  
TEF-LLErev

Termék: ~ 700 bp fragment

# Klinikai *Trichoderma* izolátumokról rendelkezésre álló molekuláris adatok

---

|                           |          |
|---------------------------|----------|
| Ismert esetek száma:      | 60 körül |
| Molekuláris azonosítás:   | 30 törzs |
| <i>T. longibrachiatum</i> | 26       |
| <i>H. orientalis</i>      | 1        |
| <i>T. citrinoviride</i>   | 2        |
| <i>T. harzianum</i>       | 1        |

Az opportunistá patogén *Trichoderma* törzsek döntő többsége a nemzetség *Longibrachiatum* szekciójába tartozik, a más fajok előfordulásáról szóló tudósítások a morfológiai azonosítás nehézségeiből adódóan számos esetben pontatlanok voltak.

# Fungi

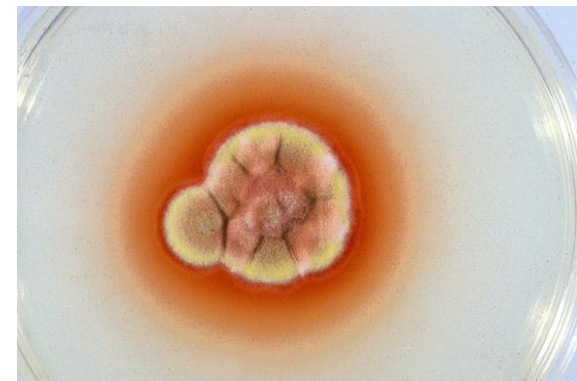
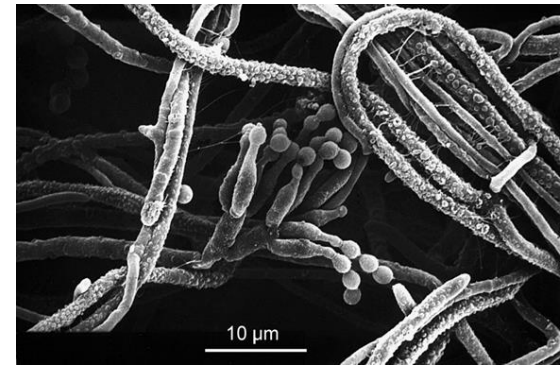
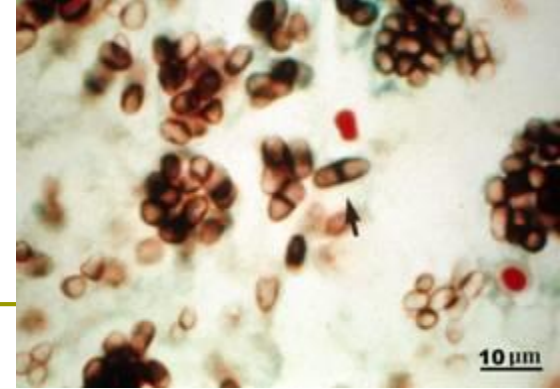
---

- Divisio: *Zygomycota*
  - *Entomophthorales* rend
  - *Mucorales* rend
- **Divisio: *Ascomycota***
  - *Hypocreales* rend
  - ***Eurotiales* rend**
  - *Microascales* rend



# *Penicillium marneffe*

- ❑ ***Trichocomaceae* család**
- ❑ **Forrás: Délkelet-Ázsia (Thaiföld, Vietnam, Hong Kong, Taiwan Dél-Kína)**
- ❑ **Betegségek: kután léziók, immunkompetens és immunszuprimált betegekben, az indokínai HIV-pozitív betegek fő oportunistájává vált.**
- ❑ **bambuszpatkánnyal asszociált**
- ❑ **További prediszponáló tényezők:**
  - lymphoproliferatív rendellenességek
  - autoimmun betegségek
  - tuberkulózis
  - kortikoszteroid terápia



# *P. marneffe*

„Molluscum contagiosum”-szerű  
léziók HIV+ betegben



Image Courtesy of S. Chiewcharvit  
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

Papula-szerű,  
elvakart léziók  
HIV+ betegben



# Penicillium marneffeii

## molekuláris

## diagnosztikája

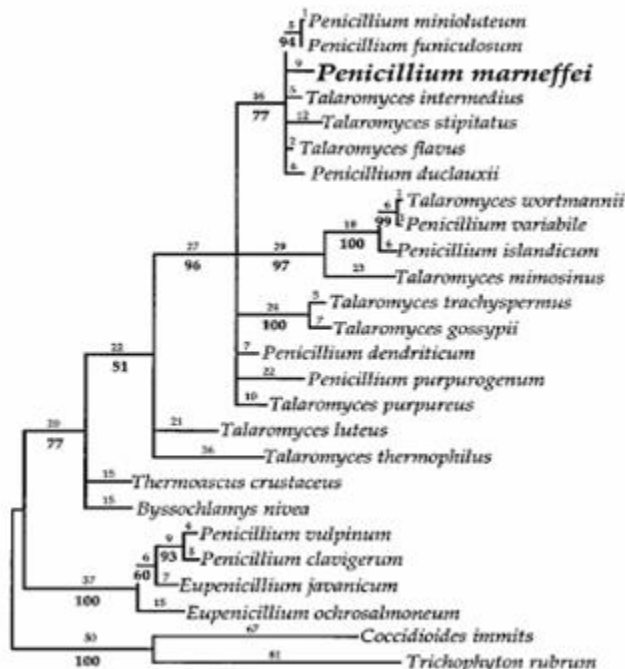
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 1995, p. 85-89  
0095-1137/95/\$04.00+0  
Copyright © 1995, American Society for Microbiology

Vol. 33, No. 1

### Phylogeny and PCR Identification of the Human Pathogenic Fungus *Penicillium marneffeii*

KATHERINE F. LoBUGLIO\* AND JOHN W. TAYLOR

- Filogenetikai helyzet magi és mitokonfriális rDNS régiók szekvenciája alapján: Biverticillium klád (*Talaromyces*)
- ITS-régió három jellegzetes szakasza alapján specifikus primerek tervezése
- PM2-PM4 primerpárral kimutatták a kórokozót AIDS-beteg bőrmintájából (Tsunemi et al. 2003)

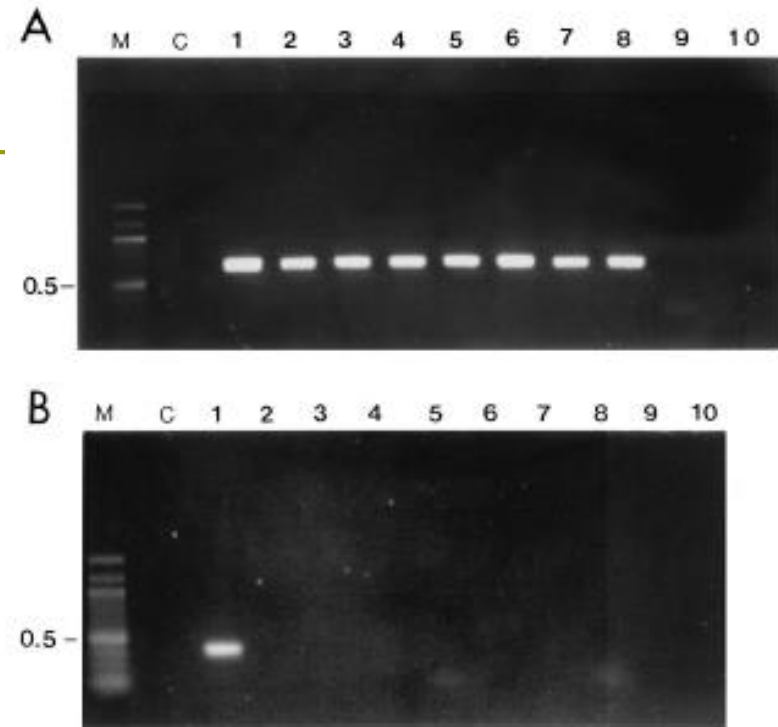


| Species and isolate no. <sup>a</sup>   | Amplification <sup>b</sup> by:                 |                 |      |                    |
|--|--|-----------------|------|--------------------|
|  | ITS5-ITS4 <sup>c</sup><br>at 48°C <sup>d</sup> | PM1-PM4<br>60°C | 65°C | PM2-PM4<br>at 60°C |
| <i>Penicillium marneffeii</i> ATCC 18224,<br>ATCC 24100, ATCC 64101, ATCC<br>64102, FRR 3841, FRR 4059 | +  | +               | +    | +                  |
| <i>Penicillium funiculosum</i> FRR 1823  | +  | ±               | -    | -                  |
| <i>Penicillium purpurogenum</i> FRR 1147   | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> UCB 81-4  | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Penicillium citrinum</i> FRR 806  | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Penicillium crustosum</i> FRR 1809  | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Talaromyces thermophilus</i> FRR 1791   | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Talaromyces trachyspermus</i> FRR 1792  | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Talaromyces stipitatus</i> FRR 2166   | +  | +               | +    | -                  |
| <i>Talaromyces flavus</i> FRR 2386   | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Paecilomyces variotti</i> FRR 1658  | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Geosmithia argillaceae</i> FRR 3098   | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> LCB 2642  | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Histoplasma capsulatum</i> <sup>f</sup>   | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Coccidioides immitis</i> FRR 3841   | +  | -               | -    | -                  |
| <i>Pneumocystis carinii</i> <sup>f</sup>   | +  | -               | -    | -                  |

# *Penicillium marneffe* molekuláris diagnosztikája

- Fajspecifikus hibridizációs próba a 18S rDNS primerekkel amplifikált szakaszára (Vanittanakom és mtsai. 1998)
- Ugyanezen szakaszra specifikus primerpár tervezése, egyszerű, és nested PCR reakció, szérumból is (Vanittanakom és mtsai. 2002)
- Nested PCR szövetmintából is (Zeng és mtsai. 2009)
- Egycsöves seminested PCR reakció vérből is (Prariyachatigul és mtsai. 2003)

## Nested PCR



1, *Penicillium marneffe* 2, *Penicillium* sp. (nem *P. marneffe*); 3, *Aspergillus fumigatus*; 4 és 5, *Histoplasma capsulatum*, 6, *Cryptococcus neoformans*; 7, *Candida albicans*; 8, *Candida krusei*; 9, *Streptococcus* sp.; 10, humán DNS; M, mólsúlymarker C, negatív kontrol.  
A: univerzális gombaprimerpár, B: *P. marneffe* specifikus primerpár

# *Penicillium marneffe*

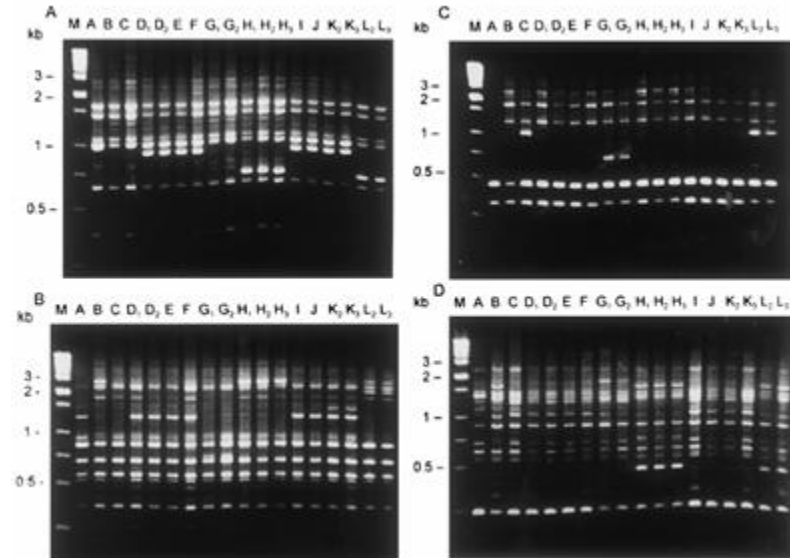
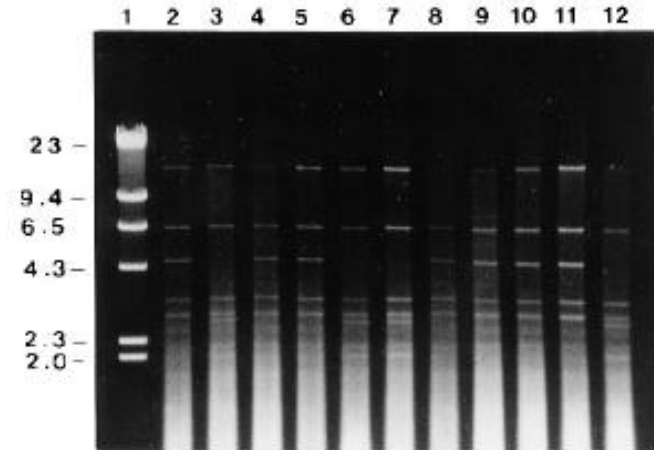
## molekuláris diagnosztikája

---

- **TaqMan real-time PCR**  
(Pornprasert és mtsai. 2009)

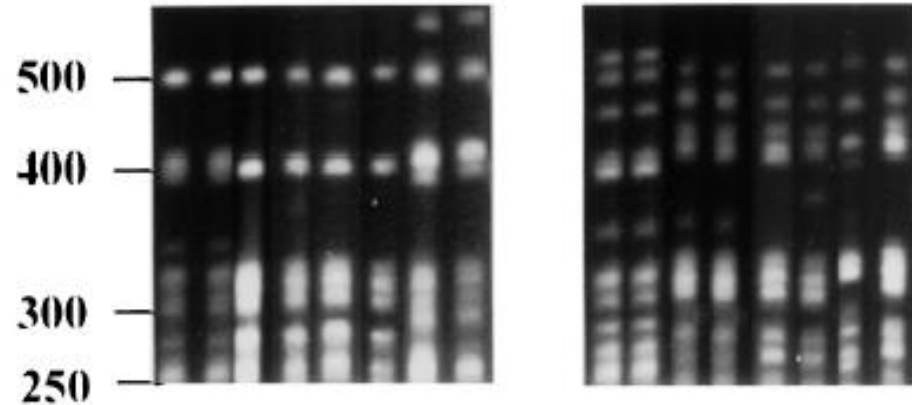
# *Penicillium marneffe* tipizálása

- ***Haell* RFLP 46 thaiföldi izolátumra (22 klinikai): két DNS-típus különíthető el (Vanittanakom és mtsai. 1996)**
- **RAPD 6 random primerrel: 20 taiwani izolátum, 8 mintázat (Hsueh és mtsai. 2000)**
- **PFGE *Not*I restrikciós emésztéssel: 69 thaiföldi izolátum, 54 különböző makrorestrikciós profil 2 fő klaszterben (Trewatcharegon és mtsai. 2001)**

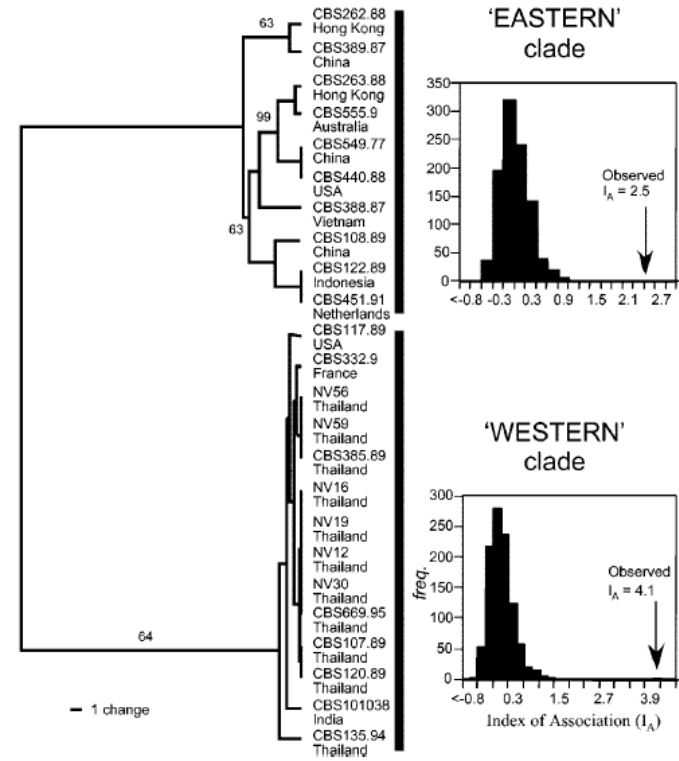


# *Penicillium marneffe* tipizálása

- 3 polimorf mikroszatellita marker (PMM) analízise: 35 izolátum, 22 allélikus típus (Lasker and Ran 2004)

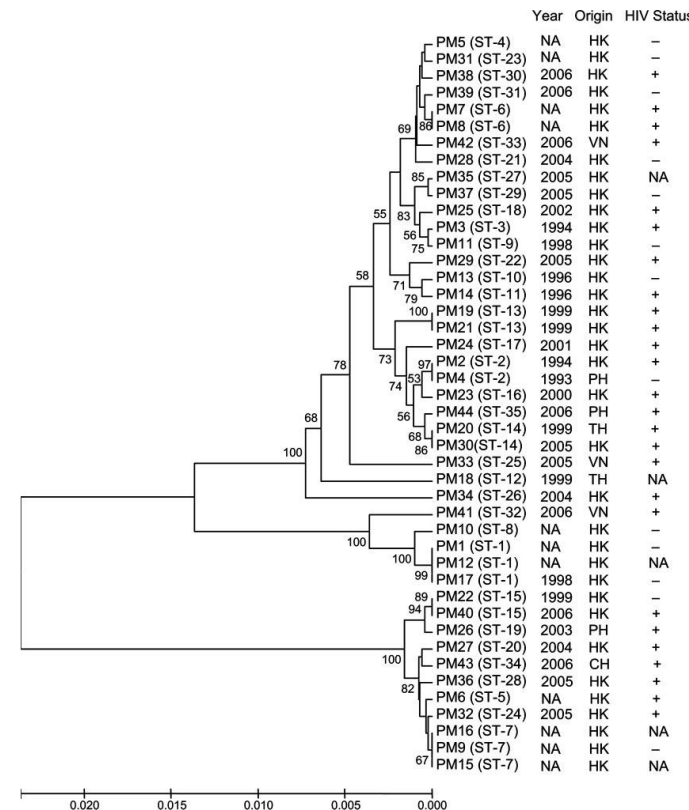
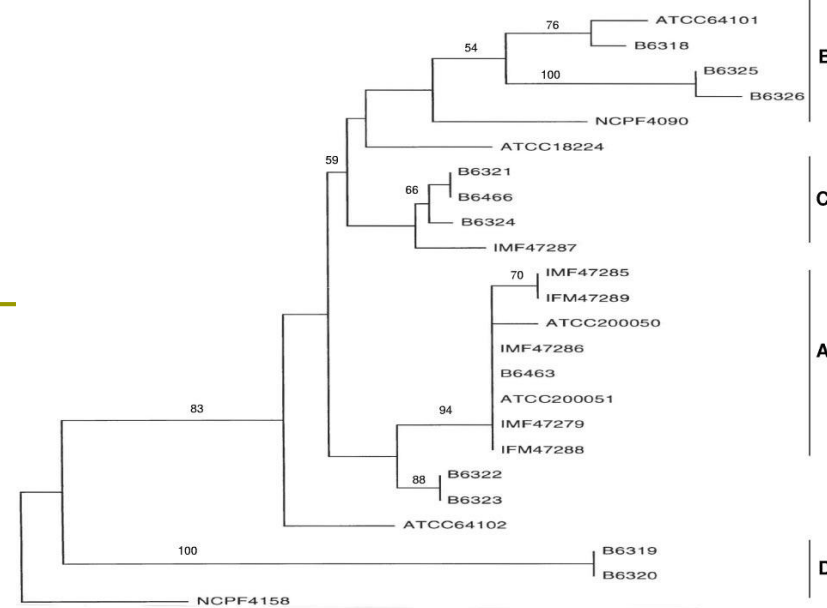


- multilokusz mikroszatellita tipizálás: 23 lokusz vizsgálata 24 izolátum esetében: két fő klád (Fisher és mtsai. 2004)



# *Penicillium marneffe* tipizálása

- multilokusz szekvenciatipizálás:
  - 8 lokusz vizsgálata 24 izolátum esetében, egy sejtfalglükoprotein antigén génfragmentje (MP1) nagy variabilitást mutatott (Lasker 2006)
  - MP1 és 4 homológjának tesztelése 44 törzs esetében: 183 polimorf hely, 35 típus (Woo és mtsai. 2007)





# Fungi

---

- Divisio: *Zygomycota*
  - *Entomophthorales* rend
  - *Mucorales* rend
- **Divisio: *Ascomycota***
  - *Hypocreales* rend
  - *Eurotiales* rend
  - ***Microascales* rend**

# *Scedosporium* spp. (*S. prolificans*, *S. apiospermum*/*Pseudallescheria boydii*)

- **Forrás:** talaj, szennyvíz, komposzt, trágya
- **Betegség:** szubkután fertőzések, osteomyelitis, arthritis, légúti fertőzések
- **Rizikócsoport:** cisztikus fibrózisos betegek
- **Multirezisztencia** antifungális szerekkel szemben, kombinációs terápia



# Scedosporium prolificans molekuláris tipizálása

- RAPD (12 primer különböző kombinációi): jól diszkriminál a különböző betegekből származó izolátumok között, 11 beteg – 11 eltérő RAPD mintázatú törzs

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 1997, p. 2270-2274  
0095-1137/97/3504-00+0  
Copyright © 1997, American Society for Microbiology

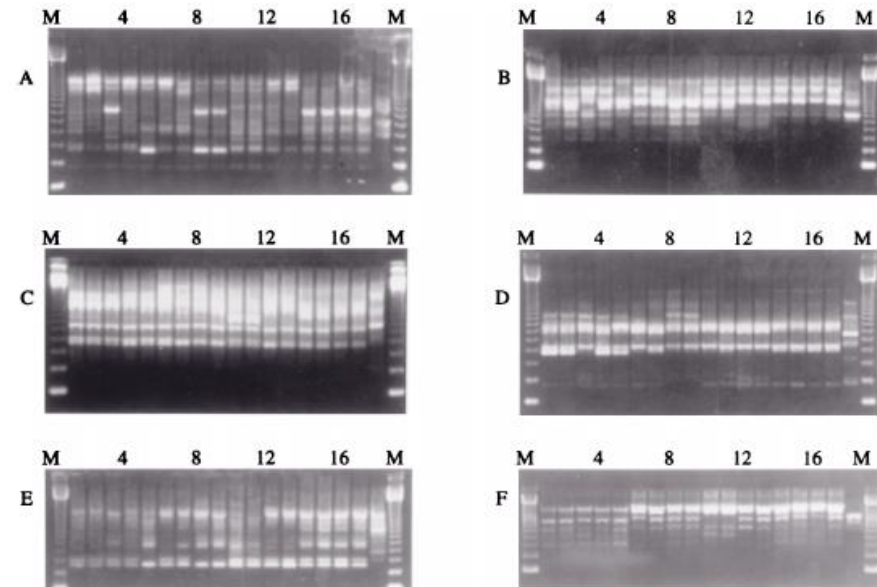
Vol. 35, No. 9

## Characterization of *Scedosporium prolificans* Clinical Isolates by Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis

ROSARIO SAN MILLÁN,<sup>1</sup> GUILLERMO QUINDÓS,<sup>1</sup> JAVIER GARAIZAR,<sup>2</sup>  
RICARDO SALESA,<sup>3</sup> JOSEP GUARRO,<sup>4</sup> AND JOSÉ PONTÓN<sup>1\*</sup>

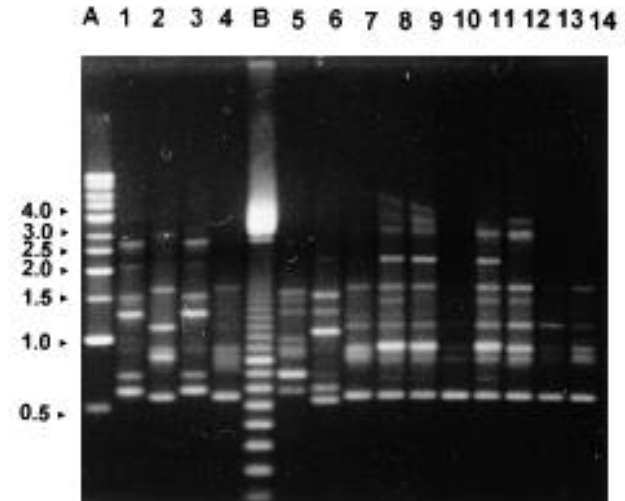
Pattern obtained with the following primers<sup>a</sup>:

| Strain       | Patient | ABI.13 |   | UBC 705 |   | ABI.101 |   | ABI.118 |   | UBC 706 |   | UBC 717 |   | UBC 722 |   | ABI.120 |   | ABI.111 |   | UBC 703 |   | UBC 707 |   | UBC 721 |   | ABI.108 |   | UBC 701 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------------|---------|--------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|              |         | V      | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V       | C | V | C |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|              |         |        |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |         |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| 3569         | I       | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A | 1 | A | 1 | A | 1 | A | 1 | A | 1 |   |   |   |   |   |   |
| 3668         | II      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | B       | 1 | B | 2 | B | 2 | C | 2 | C | 3 | C | 3 |   |   |   |   |   |   |
| 3669         | III     | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | B       | 2 | A       | 2 | B       | 2 | B       | 2 | A       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | C       | 2 | C | 3 | C | 3 | C | 3 | C | 3 | C | 3 |   |   |   |   |   |   |
| NCPE 2799    | IV      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A | 1 | A | 1 | A | 1 | A | 1 | A | 1 | B | 1 |   |   |   |   |
| 93/39833     | V       | A      | 1 | A       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | B       | 1 | A       | 2 | A       | 2 | C       | 2 | A       | 1 | B       | 1 | D       | 3 | D       | 1 | D | 1 | D | 1 | D | 1 | D | 1 | D | 1 | D | 1 |   |   |   |   |
| 95207        | VI      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 3 | A       | 3 | C       | 2 | A       | 1 | B       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | B | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 |   |   |   |   |
| 96026        | VII     | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | A       | 4 | D       | 2 | B       | 1 | C       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 | B | 4 |   |   |   |   |
| 93252        | VIII    | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | B       | 2 | A       | 4 | B       | 3 | C       | 2 | C       | 1 | B       | 1 | E       | 5 | E       | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 |   |   |   |   |
| 93253        | VIII    | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | B       | 2 | A       | 4 | B       | 3 | C       | 2 | C       | 1 | B       | 1 | E       | 5 | E       | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 | E | 2 |   |   |   |   |
| 94001        | IX      | A      | 1 | A       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | A       | 1 | B       | 4 | C       | 2 | B       | 3 | D       | 1 | X       | 1 | F       | 4 | F       | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 |   |   |   |   |
| 94004        | IX      | A      | 1 | A       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | B       | 1 | A       | 1 | B       | 4 | C       | 2 | B       | 3 | D       | 1 | C       | 1 | F       | 4 | F       | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 | F | 1 |   |   |   |   |
| 96011        | X       | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | A       | 4 | C       | 2 | D       | 1 | B       | 1 | D       | 1 | A       | 4 | G       | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 |   |   |
| 96025        | X       | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | A       | 4 | C       | 2 | D       | 1 | B       | 1 | D       | 1 | A       | 4 | G       | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 | G | 4 |   |   |
| 93394        | XI      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | C       | 4 | D       | 2 | B       | 2 | C       | 1 | E       | 1 | G       | 6 | H       | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 |   |   |
| 93395        | XI      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | C       | 4 | D       | 2 | B       | 2 | C       | 1 | E       | 1 | G       | 6 | H       | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 |   |   |
| 93398        | XI      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | C       | 4 | D       | 2 | B       | 2 | C       | 1 | E       | 1 | G       | 6 | H       | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 |   |   |
| 94007        | XI      | A      | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 1 | A       | 2 | C       | 4 | D       | 2 | B       | 2 | C       | 1 | E       | 1 | G       | 6 | H       | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 | H | 4 |
| No. of types |         | 1      | 1 | 1       | 1 | 2       | 1 | 2       | 1 | 2       | 1 | 2       | 1 | 2       | 3 | 3       | 4 | 4       | 3 | 4       | 3 | 4       | 1 | 5       | 1 | 7       | 6 | 8       | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |   |

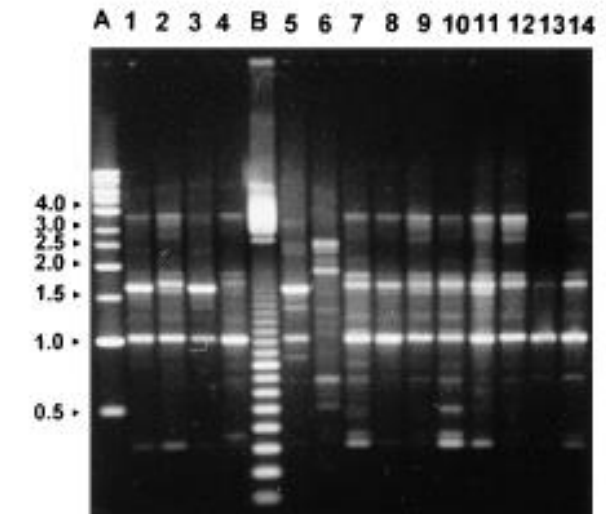


# *Scedosporium prolificans* molekuláris tipizálása

- Nozokomiális kitörésből származó 4 klinikai izolátum + 10 más régiókban izolált törzs
  - RAPD (2 random primer), PCR-fingerprinting (M13)
  - 4 törzs – 3 molekuláris típus, két betegből azonos típus
- Inter-simple-sequence-repeat (ISSR) fingerprinting: 84 törzs, 35 genotípus (Sole és mtsai. 2003)



a



b

# *S. apiospermum*/*P.boydii* molekuláris tipizálása

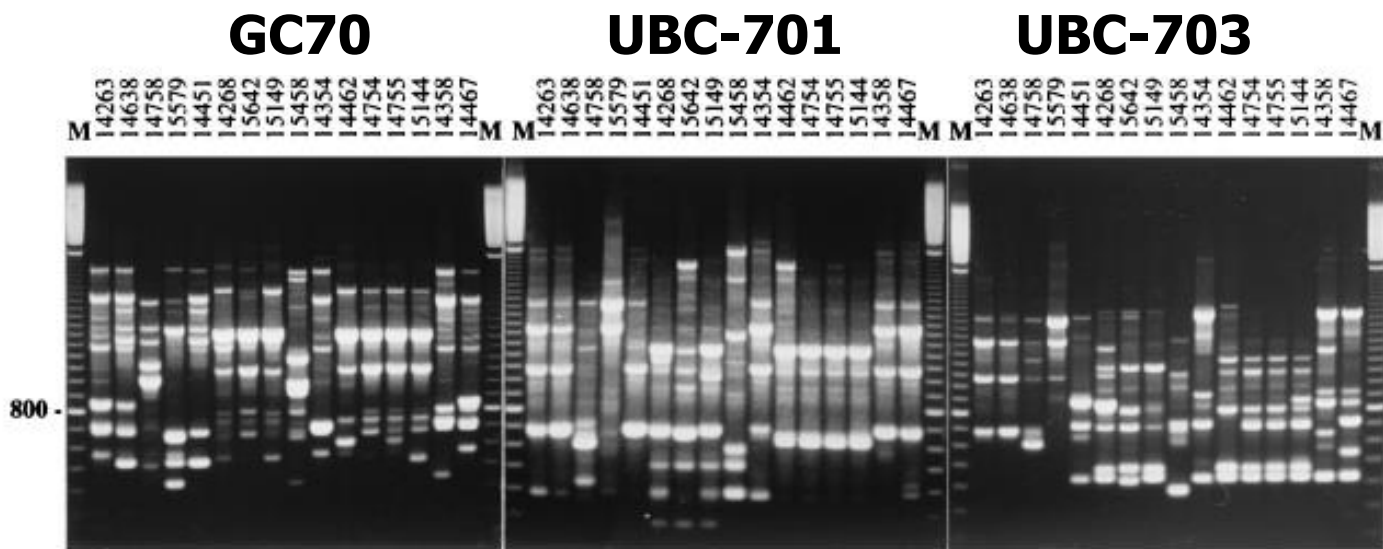
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2002, p. 2108–2114  
0095-1137/02/\$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.40.6.2108-2114.2002  
Copyright © 2002, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 40, No. 6

- RAPD, 3 primerből álló szett
- 9 tisztikus fibrózisos beteg,  
14 hónap, 129 izolátum, 16 genotípus
- Több betegben nem találtak azonos genotípust
- 5 betegben 1 genotípus, 4-ben 1  
predomináns + 1-2 további genotípus

Genotyping Study of *Scedosporium apiospermum* Isolates from Patients with Cystic Fibrosis

Alain Defontaine,<sup>1\*</sup> Rachid Zouhair,<sup>1†</sup> Bernard Cimon,<sup>2</sup> Jacqueline Carrère,<sup>3</sup> Eric Bailly,<sup>4</sup> Françoise Symoens,<sup>5</sup> Mohammed Diouri,<sup>6</sup> Jean-Noel Hallet,<sup>1</sup> and Jean-Philippe Bouchara<sup>2</sup>



# *S. apiospermum*/*P. boydii* molekuláris tipizálása

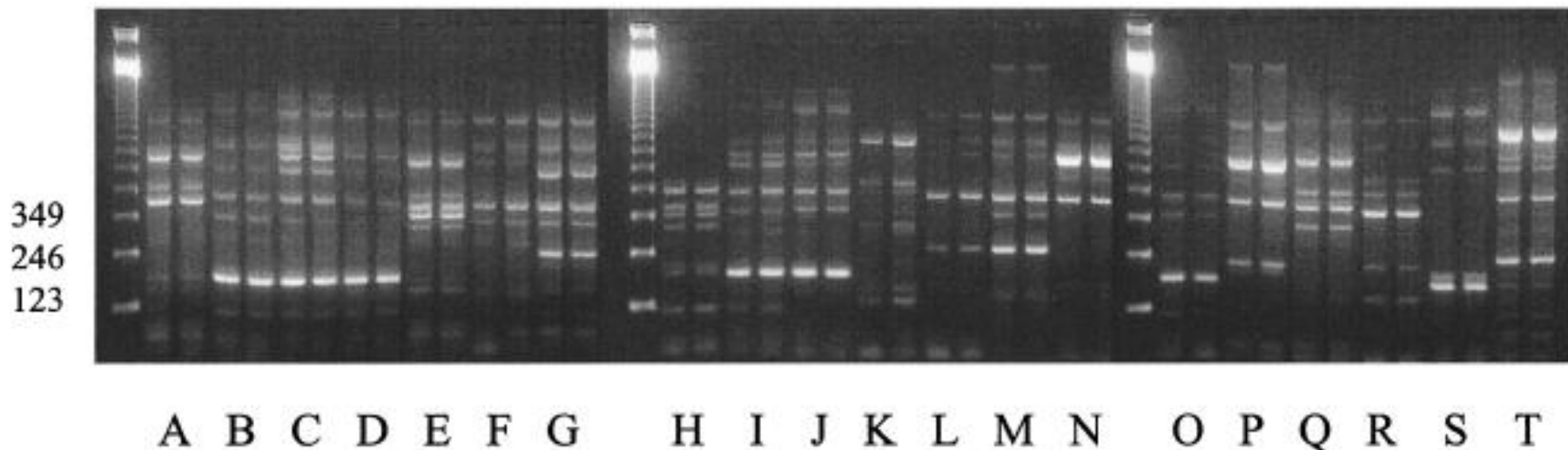
- Ausztráliai klinika
- IGS-PCR
- 52 izolátum cisztikus fibrózisos betegekből és környezeti mintákból
- 20 típus
- 9 betegből több típus
- 11 betegben ugyanaz a típus
- Egy másik típus 2 betegben

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 2001, p. 47-50  
0095-1137/00/\$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.39.1.47-50.2001  
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 39, No. 1

Molecular Epidemiology of *Scedosporium apiospermum*  
Infection Determined by PCR Amplification of Ribosomal  
Intergenic Spacer Sequences in Patients with Chronic  
Lung Disease

EMMA C. M. WILLIAMSON,<sup>1\*</sup> DAVID SPEERS,<sup>1</sup> IAN H. ARTHUR,<sup>1</sup> GERALD HARNETT,<sup>1</sup>  
GERARD RYAN,<sup>2</sup> AND TIM J. J. INGLIS<sup>1</sup>



# Összefoglalás

|                                    | <b>Diagnosztika</b>  | <b>Epidemiológia</b>   | <b>Taxonómia</b>  |
|------------------------------------|--|--|---|
| <i>Penicillium marneffeii</i>      | PCR/hibridizáció specifikus próbával (18S rDNS), specifikus primerek (egyszerű, seminested, nested PCR)    | RFLP ( <i>Hae</i> III), RAPD (6 primer kombináció), PFGE ( <i>Not</i> I), polimorfikus mikroszatellita marker analízis (PMM) | Magi és mitokondriális rDNS régiók szekvencia analízise                       |
| <i>Fusarium</i> spp.               | Specifikus primerek (rDNS), in situ hibridizáció specifikus próbákkal (rDNS), 28S rDNS szekvencia analízis | RAPD, RFLP, interrepeat PCR  | 28S rDNS szekvencia analízis  |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | ITS-szekvencia analízis  | cellulóz-acetát elektroforézis, mtDNS RFLP, BIOLOG-fenotipizálás   | PCR fingerprinting, ITS szekvencia analízis, <i>tef1</i> szekvencia analízis, |

# Összefoglalás

|                                 | <b>Diagnosztika</b>   | <b>Epidemiológia</b>  | <b>Taxonómia</b>   |
|---------------------------------|---|---|--|
| <i>Scedosporium prolificans</i> | ITS-szekvencia analízis, specifikus primerek (ITS2)                             | RAPD (3 primer kombináció), PCR fingerprinting (M13), ISSR fingerprinting | ITS szekvencia analízis, ITS RFLP, 18S rDNS szekvencia analízis                                |
| <i>Scedosporium apiospermum</i> | ITS-szekvencia analízis   | RAPD (3 primer kombináció), IGS PCR                                       | 18S rDNS szekvencia analízis, 18S rDNS RFLP, ITS szekvencia analízis, PCR fingerprinting (M13) |
| <i>Neocosmospora vasinfecta</i> | ITS-szekvencia analízis   |   |  |
| Zygomycota                      | MicroSeq D2 large-subunit rDNA sequencing kit<br>Specifikus primerek (28S rDNS) |   |  |

## Molecular diagnosis, epidemiology and taxonomy of emerging medically important filamentous fungi

Elisabeth Nagy<sup>a,b</sup>, László Kredics<sup>b</sup>, Zsuzsanna Antal<sup>b</sup> and Tamás Papp<sup>b,c</sup>



# Köszönöm a figyelmet!

---

