

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



**SDÍLENÍ LÉKAŘSKY VÝZNAMNÝCH VLÁKNITÝCH
MIKROMYCET DOMÁCÍMI MAZLÍČKY A JEJICH
MAJITELI**

Rigorózní práce

Mgr. Jan Wipler

Botanika

Prezenční forma studia

Vedoucí práce: doc. RNDr. Vladan Ondřej, Ph. D.

Olomouc 2018

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem rigorózní práci vypracoval samostatně pod vedením doc. RNDr. Vladana Ondřeje, Ph.D. a uvedl v ní všechny použité prameny a zdroje.

V Olomouci 16. května 2019

Poděkování:

Děkuji vedoucímu rigorózní práce, doc. RNDr. Vladanu Ondřejovi, Ph.D., za připomínky a cenné rady během jejího vypracování. Děkuji také prof. Ing. Aleši Lebedovi, Dr.Sc. za laskavé schválení tohoto tématu. Velký dík patří i doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc., za poskytnutí literatury k identifikaci vláknitých hub. V neposlední řadě děkuji své školitelce disertační práce, MVDr. Zuzaně Čermákové, Ph.D., za podporu a trpělivost během psaní rigorózní práce a stagnace práce disertační. Děkuji studentům Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové za nemalou pomoc při sběru vzorků. Jsem velmi zavázán RNDr. Karlu Hrachovi, Ph.D. za návody k volbě vhodných statistických metod pro testování stanovených hypotéz. V neposlední řadě patří velký dík i Ing. Jiřímu Peterovi za rady a doporučení během finálních grafických úprav.

Studie byla podpořena grantovým projektem SVV 260 398, a tudíž děkuji také Lékařské fakultě v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze za poskytnutí finančních prostředků nutných k materiálnímu zajištění.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Jan Wipler

Název práce: Sdílení lékařsky významných vláknitých mikromycet domácími mazlíčky a jejich majiteli

Typ práce: rigorózní

Pracoviště: Ústav klinické mikrobiologie Lékařské fakulty v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze

Vedoucí práce: doc. RNDr. Vladan Ondřej, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2019

Úvod: Mikrobiologický aspekt vztahu domácích mazlíčků a jejich majitelů se zaměřuje na výskyt společných druhů mikroskopických vláknitých hub, zejména potenciálně patogenních či alergenních. Vzhledem k tomu, že sdílení domácností majitelů a zvířat sociálně povýšených na členy rodiny je v České republice velmi časté, stoupá i pravděpodobnost oboustranného přenosu mikroorganismů. Cílem rigorózní práce je zjistit na základě intimity vztahu člověka a zvířete sdílené druhové spektrum vláknitých hub i s ohledem na předchozí antibiotickou terapii, která může podporovat kolonizaci houbovou mikroflórou inhibicí růstu flóry bakteriální.

Metodika: 125 domácností poskytlo celkem 911 vzorků. Stěry z nosní sliznice, meziprstí nohou, podpaží a zvukovodu byly odebrány od 150 majitelů a vzorky nosní sliznice a zvukovodu od 135 zvířecích mazlíčků (u plazů primárně jen z nozder). U některých z testovaných jedinců (38 zvířat a 7 majitelů) byl odebrán vzorek také ze suspektní léze (kožní eflorescence, pooperační rány, zánětlivé ložisko atd.). Výtěry nosní sliznice, zvukovodu, podpaží a meziprstí nohou (320 vzorků) byly odebrány také kontrolní skupině 80 lidí, kteří nesdílejí déle než 1 rok s žádným zvířetem domácnost. Suspektní léze nebyla nalezena ani u jednoho z nich. Všichni majitelé vyplnili dotazník týkající se chovaných zvířat, vztahu k nim a předchozí prodělané antibakteriální terapie. Druhy hub byly určovány kultivačními a mikroskopickými metodami v konfirmaci s přístrojem Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI – TOF). Na základě statistických metod byly hodnoceny hypotézy závislosti množství sdílených druhů vláknitých hub na intimitě vztahu a vliv předchozí ATB.

Výsledky: Analýzou získaných dotazníků bylo zjištěno, že 54 (43,2 %) zúčastněných domácností chová více zvířat než jen to testované. CI jen u 19 (12,67 %) ze všech majitelů byl ≤ 4 . 46 (34,05 %) testovaných zvířat a 43 (28,67 %) testovaných majitelů užívalo v posledním

roce antibiotickou léčbu. Bylo izolováno 107 druhů (včetně taxonů nižších než druh) vláknitých hub ze 125 domácností majitelů a jejich zvířecích mazlíčků (85 druhů ze zvířecích mazlíčků a 93 z majitelů), z nichž 71 druhů bylo izolováno u obou makroorganismů (zvíře i člověk). Zjistili jsme ve 42 domácnostech (33,6 %) sdílení vláknitých druhů mikromycet majiteli a jejich zvířecími mazlíčky. 2 domácnosti sdílely 4 druhy, 1 sdílela 3 druhy, 8 sdílelo 2 druhy a 31 po jednom. U kontrolní skupiny bylo zaznamenáno 65 druhů (včetně taxonů nižších než druh) vláknitých hub. 25 účastníků (31,25 %) z kontrolní skupiny podstoupilo antibiotickou léčbu v posledním roce.

Závěr: Předkládaná studie potvrzuje častěji užívaný vztah člověka se psem než s kočkou. Míra intimity kontaktu majitele a domácího mazlíčka zřejmě nemá žádný vliv na početnost sdílených druhů mykoorganismů, ale předchozí ATB terapie má na početnost druhů hub značný vliv u kontrolní skupiny účastníků bez dlouhodobého styku se zvířaty. U majitelů a jejich domácích zvířat tento vliv pozorován nebyl. Z celkového počtu všech 125 domácností byl nejčastěji izolován druh *Aspergillus niger*. Je významným houbovým alergenem a producentem toxinů. U kontrolní skupiny účastníků měl nejčastější frekvenci izolací druh *Alternaria alternata*, který je rovněž alergenem a také příležitostným patogenem.

Klíčová slova: zvířecí mazlíčci, chovatel, sdílení, mykobiota

Počet stran: 141

Počet příloh: 3

Jazyk: čeština

The bibliographical identification

Autor's first name and surname: Jan Wipler

Title: The sharing of medically important filamentous microfungi by the pets and their owners

Type of thesis: rigorous

Department: Institute of clinical Microbiology of Medicinal faculty in Hradec Králové Charles University in Prague

Supervisor: doc. RNDr. Vladan Ondřej, Ph.D.

The year of presentation: 2019

Introduction: The microbiological aspect of a relationship between pets and their owners is especially focused on the incidence of the shared filamentous fungal species that can be potential pathogens and allergens. With respect to the households sharing by owners and the pets socially promoted to family members is very often in the Czech Republic, the probability of the two-sided microbial transmission also increases. The target of the rigorous thesis is the finding on the basis of the human and animal relationship intimacy the shared species spectrum of filamentous fungi with regard to previous antibiotic therapy that can support the fungal microflora colonization by growth inhibiting of bacterial flora.

Methods: 125 households provided 911 samples in total. The swabs from the nasal mucosa, space between the toes, armpit and the auditory cannula were collected from 150 owners and the swabs from nasal mucosa and auditory canal were performed from 135 pets (from reptilia primary from nostrils). Some of the tested individuals (38 animals and 7 owners) were also sampled from suspected lesions (skin efflorescence, postoperative wounds, inflammatory deposits, etc.). The nasal mucosa, auditory canal, armpit and space between the toes swabs (320 swabs) were also performed from a control group of 80 people who did not share for more than 1 year with any pet a household. The suspected lesions were not found in either of them. All owners completed a questionnaire rating to the reared pets, the relationship to them and the previous underwent antibacterial therapy. The fungal species were determined by cultivating and microscopic methods and confirmed by the Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI – TOF) apparatus. On the basis of statistical methods, the hypotheses of the dependence of the amount of shared microscopic filamentous fungal species on intimacy of the relationship and the previous ATB therapy influence were verified.

Results: It was found by the obtained questionnaires analysis 54 (43.2 %) that the participated households keep more pets than this one tested. Contact Index only in 19 (12.67 %) of all the owners were ≤ 4 . The 46 (34.05 %) of tested animals and 43 (28.67 %) of tested owners used antibiotic treatment in the last year. The 107 species (including taxa lower than species) of filamentous microfungi were isolated in 125 households from owners and their pets (85 species from pets and 93 species from owners), of which 71 species (including taxa lower than species) occur in both macroorganisms (animal and human). We found the sharing of microscopic filamentous fungi species in 42 households (33.6 %) by the owners and their pets. Two households share 4 species, 1 shared 3 species, 8 shared 2 species and 31 one by one. In the control group, it were identified 65 filamentous fungal species. 25 participants (31.25 %) from the control group used the antimicrobial agents. 46 of tested animals (32,7 %) and 42 of tested owners (35,8 %) received the antimicrobial therapy at last year.

Conclusion: The submitted study confirms the closer relationship between human and a dog more often than a cat. The degree of contact intimacy between owner and pet apparently does not have any influence on the number of shared mycoorganisms, but a previous ATB therapy has a significant influence on the fungal species number in control group of participant without a long-term contact with pets. This influence was not observed in owners and their pets. Of the total number of 125 households were the most often isolated the *Aspergillus niger* species. It is very important fungal allergen and toxin producer. In the control group of participants, the most frequent isolation rate was the *Alternaria alternata* species, that is also an allergen and an occasional pathogen.

Keywords: pets, owner, filamentous fungi, shared mycobiot

Number of pages: 141

Number of appendices: 3

Language: czech

OBSAH

ÚVOD	10
1. TEORETICKÁ ČÁST	11
1.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA	11
1.1.1 <i>Taxonomie VM</i>	11
1.1.2 <i>Ekologie VM</i>	15
1.2 KLINICKÝ VÝZNAM	16
1.2.1 <i>Alergie</i>	17
1.2.2 <i>Intoxikace sekundárními metabolity</i>	17
1.2.3 <i>Infekce způsobené VM</i>	23
1.3 DIAGNOSTIKA HOUBOVÝCH INFEKcí	24
1.3.1 <i>Kultivace in vitro</i>	25
1.3.2 <i>Mikrokultivační technika</i>	25
1.3.3 <i>Mikroskopie</i>	26
1.3.4 <i>Sérologie</i>	26
1.3.5 <i>Molekulárně biologické metody</i>	27
1.3.6 <i>Kultivace in vivo</i>	30
1.4 PŘIROZENÁ HOUBOVÁ MIKROFLÓRA	30
1.4.1 <i>Mykobiota DM</i>	31
1.4.2 <i>Mykobiota člověka</i>	33
1.4.3 <i>Cesty přenosu mykobioty člověka a DM</i>	35
2. CÍLE PRÁCE	36
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	37
3.1 PŘÍSTROJOVÁ TECHNIKA A MATERIÁLY	37
3.1.1 <i>Přístrojová technika</i>	37
3.1.2 <i>Kultivační média a jejich složení</i>	37
3.2 METODIKA	38
3.2.1 <i>Odběr materiálu</i>	38
3.2.2 <i>Dotazníky</i>	38
3.2.3 <i>Očkování a kultivace vzorků</i>	40
3.2.4 <i>Identifikace vzorků</i>	40
3.2.5 <i>Stanovení hypotéz</i>	44
3.3 VÝSLEDKY	45
3.3.1 <i>Data získaná z dotazníku</i>	45
3.3.2 <i>Druhy VM izolované ze vzorků</i>	48

3.3.3 Vyhodnocení hypotéz	70
4. DISKUZE	78
4.1 VZTAH ČLOVĚKA A DM	78
4.2 IZOLOVANÉ DRUHY VM	81
4.3 VLIV ATB TERAPIE NA DRUHOU POČETNOST VM.....	84
5. ZÁVĚR	85
6. PŘEHLED LITERATURY.....	86
7.1 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	94
7.2 SEZNAM OBRÁZKŮ	95
7.3 SEZNAM TABULEK.....	95
7.4 SEZNAM GRAFŮ.....	96
7.5 SEZNAM SCHÉMAT	96
8. PŘÍLOHY	97
8.1 SDÍLENÉ LÉKAŘSKY VÝZNAMNÉ VM	97
8.2 PUBLIKACE K TÉMATU A	123
8.3 PUBLIKACE K TÉMATU B.....	133

ÚVOD

Domácí mazlíčci (DM) jsou již desítky let nedílnou součástí mnoha domácností. Úzký kontakt s člověkem pravděpodobně vede k výměně a tedy i komunikaci mikroflóry. Při dlouhodobém narušování ekologické rovnováhy mezi bakteriální a mykotickou mikrobiotou ve prospěch hub mohou oportunně patogenní mykoorganismy představovat zdravotní problém pro majitele i pro zvíře (Chomel et Sun 2011).

Houbové infekce jsou vzácnější, ale v poslední době jsou na vzestupu především u pacientů s imunodeficitem (Garbee et al. 2017; Mercier et Maertens 2017).

Ve studii jsou uváděny názvy imperfektních stádií, ačkoli to vzhledem ke zrušení duality názvů pro anamorfu (A) a teleomorfu (T) není v souladu s recentní taxonomickou nomenklaturou (Melbourne Code 2012; de Hoog 2015). Je tím však u mnoha druhů přesněji vyjádřena růstová forma houby izolovaná z klinického materiálu. Drtivá většina lékařsky významných vláknitých mikromycet (VM) se vyskytuje až na výjimky v imperfektním stádiu. V taxonomickém názvosloví stanovené Mezinárodním kódem botanické nomenklatury má název T přednost před názvem A, avšak v lékařství se názvy A natolik vžily, že se používají častěji (Otčenášek et al. 1990). T, pokud je známa, bude uvedena v Příloze 1.

Cílem studie náhodně vybraných párů je monitorovat sdílené množství druhů (včetně poddruhů a variet) VM u DM a jejich majitele s ohledem na oportunní patogeny. Je sledován i možný vliv antibiotické (ATB) léčby za poslední rok na množství VM u studovaných jedinců. Monitoring biodiverzity, přenosu a sdílení VM by mohl poukázat na možná rizika infekce oportunními mykopatogeny, neboť kontakt s domácími mazlíčky je v podstatě nedílnou součástí životů většiny z nás.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

1.1.1 Taxonomie VM

Základem thallu vláknitých hub je duté vlákno – hyfa. Ta je nejčastěji septovaná nebo mnohoaderná jednobuněčná (coenocytická). Chemické složení buněčné stěny a typ septa charakterizují oddělení hub. Buňka hyfy může být monokaryotická, dikaryotická nebo polykaryotická s geneticky odlišnými jádry (heterokaryóza) (Malíř et Ostrý 2003). Retikulum vzájemně se proplétající a bohatě se větvičích hyf je nazýváno myceliem. Dle ekologie a částečně i morfologie je mycelium extramatrikální (vzdušné) a intramatrikální (substrátové). Extramatrikální mycelium je lokalizováno na povrchu substrátu. Naproti tomu intramatrikální mycelium se nachází uvnitř substrátu. U parazitických hub je intramatrikální mycelium modifikované jednak obranným systémem živého hostitele a jednak adaptací k parazitickému životu. Dimorfismus se vyskytuje u značného počtu zoopatogenních mikromycet. Tyto houby mají schopnost růst v odlišných formách. Kvasinkovitá forma je nejčastěji parazitická, zatímco vláknitá bývá saprofytická (Lederberg, 2000). Reprodukční částice hub jsou spory. Anamorfní druhy, které vytvářejí jen konidie, jsou pro přehlednost zařazovány do pomocného oddělení Deuteromycota (Fungi imperfecti). T se rozmnožuje sexuálně. Fúzí jader po meióze vznikají haploidní spory. Jsou zařazovány do příslušných taxonomických skupin (Beneš, 2009).

VM jsou heterogenní skupinou pohlavních i nepohlavních stádií různých skupin opisthokontních hub. Jsou to organismy velmi odlišné morfologie i ekologie. U některých VM nebyla zjištěna sexuální reprodukce a tedy ani T, a proto se nazývají jen podle A (Kalina et Váňa 2005).

VM jsou jen morfologickou skupinou, a proto se v taxonomickém systému řadí do několika oddělení. Jsou polyfyletickou skupinou s velikostně nerozlišitelnou morfologií rozmnožovacích struktur pro lidské oko. Taxonomický systém řadí VM do oddělení Entomophthoromycota (hmyzomorky) (**Tab. 1, Obr. 1**), Zygomycota (houby spájkivé) (**Tab. 2, Obr. 2**), Ascomycota (houby vřeckovýtrusné) (**Tab. 3**) a Basidiomycota (houby stopkovýtrusné) (**Tab. 4, Obr. 4a**), u nichž je však z klinického materiálu izolováno pouze sterilní mycelium nebo A (**Obr. 4b**).

Oddělení: Entomophthoromycota

Třída: Basidiobolomycetes

Řád: Entomophthorales

Čeleď: Basidiobolaceae

Rod: *Basidiobolus*

Čeleď: Ancylistaceae

Rod: *Conidiobolus*

Tabulka 1.: Klasifikace lékařsky významných hmyzomerek



Obrázek 1: Moucha infikovaná *Entomophthora muscae*

Oddělení: Zygomycota

Třída: Mucoromycetes

Řád: Mucorales

Čeleď: Hypocreaceae

Rody: *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Actinomucor*, *Lichtheimia*

Čeleď: Saksenaeaceae

Rod: *Saksenaea*, *Apophysomyces*

Čeleď: Syncephalastraceae

Rod: *Syncephalastrum*

Řád: Mortierellales

Čeleď: Mortierellaceae

Rod: *Mortierella*

Tabulka 2.: Klasifikace lékařsky významných zygomycet



Obrázek 2: *Phycomyces nitens* na psím exkrementu

Oddělení: Ascomycota		
Třída: Sordariomycetes Řád: Hypocreales Čeleď: Hypocreaceae Rody: <i>Trichoderma</i> , <i>Acremonium</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Verticillium</i> Čeleď: Cordicipitaceae Rody: <i>Beauveria</i> , <i>Isaaria</i> Čeleď: Nectriaceae Rod: <i>Fusarium</i>	Třída: Dothideomycetes Řád: Capnoidales Čeleď: Davidiellaceae Rod: <i>Cladosporium</i>	Třída: Eurotiomycetes Řád: Eurotiales Čeleď: Trichocomaceae Rody: <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Emericella</i> , <i>Neosartorya</i>
Řád: Ophiostomatales Čeleď: Ophiostomataceae Rod: <i>Sporothrix</i>	Řád: Pleosporales Čeleď: Pleosporaceae Rod: <i>Alternaria</i>	Řád: Onygenales Čeleď: Onygenaceae Rod: <i>Coccidioides</i> Čeleď: Arthrodermataceae Rody: <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Epidermophyton</i> , <i>Chrysosporium</i> Čeleď: Ajellomycetaceae Rody: <i>Ajellomyces</i> , <i>Emmonsia</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Paracoccidioides</i>
Řád: Microascales Čeleď: Microascaceae Rody: <i>Scopulariopsis</i> , <i>Scedosporium</i> , <i>Pseudallescheria</i>		Řád: Chaetothyriales Čeleď: Herpotrichiellaceae Rody: <i>Exophiala</i> , <i>Phialophora</i>

Tabulka 3: Klasifikace lékařsky významných vláknitých/dimorfních askomycet



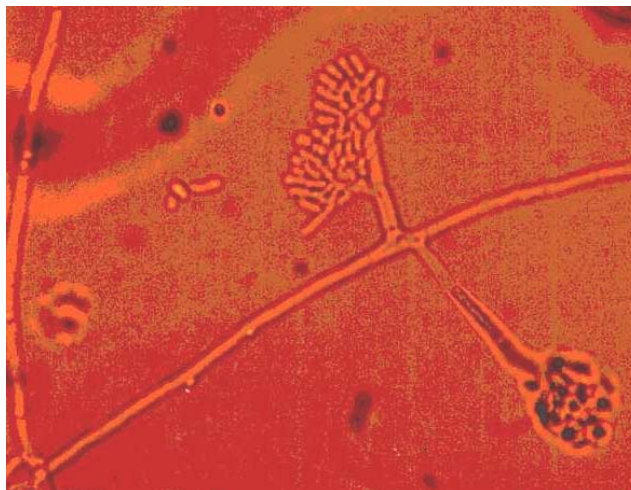
Obrázek 3: *Onygena corvina* na sovím vývržku

Oddělení: Basidiomycota	
Třída: Agaricomycetes	
Řád: Agaricales	
Čeleď: Schizophyllaceae	
Rody: <i>Schizophyllum</i>	
Čeleď: Psathyrellaceae	
Rod: <i>Hormographiella</i>	
Čeleď: Pluteaceae	
Rod: <i>Volvariella</i>	
Řád: Hymenochaetales	
Čeleď: Hymenochaetaceae	
Rody: <i>Cyclomyces, Phellinus, Inonotus</i>	
Řád: Polyporales	
Čeleď: Polyporaceae	
Rod: <i>Perenniporia</i>	
Čeleď: Phanerochaetaceae	
Rod: <i>Sporotrichum</i>	
Čeleď: Meruliaceae	
Rod: <i>Bjerkandera</i>	
Čeleď: Irpicaceae	
Rody: <i>Irpex, Ceriporia</i>	

Tabulka 4: Klasifikace lékařsky významných vláknitých basidiomycet



Obrázek 4: T: *Coprinopsis cinerea*



Obrázek 5a, b: A: *Hormoglyphiella aspergillata* (zdroj: Verweij et al. 1997; Surmont et al. 2002)

1.1.2 Ekologie VM

Heterotrofní výživa charakterizuje všechny houby. Vlákňité houby s výjimkou některých chytridií mají respiračně aerobní typ metabolismu. Všechny opisthokontní houby, tedy i VM syntetizují lysin drahou AAA (přes kyselinu α -aminoadipovou) (Nishida et Nyshiyama 2000).

Pro správný chod všech metabolických procesů potřebují vodu, vhodnou teplotu, pH a organický zdroj uhlíku a dusíku. Takový substrát představuje půda, trus a sekundárně i ovoce, zelenina nebo sliznice savců (Kalina et Váňa 2006). Slizniční povrchy obratlovců jsou kolonizovány komensální mikroflórou, jejíž menší část zaujímá mykobiota. Kvasinky mají dokonalejší adhezenční schopnosti a mezidruhovou kooperaci může vzniknout pevnější

biofilm než jen unispeciální. Tato kooperace byla popsána u *Candida albicans* a *Malassezia pachydermatis* (Bumroongthai 2016).

Entomophthoromycota jsou zřejmě nejstarobylejším oddělením bezbičíkatých hub. Oddělily se od Zygomycot na základě genetických a morfologických znaků. Tvoří monofyletickou skupinu. Většinou jde o primární parazity hmyzu (Humber 2016).

Zygomycety jsou oddělením VM s častěji neseptovaným (coenocytickým) myceliem. Některé druhy mohou být zoopatogenní při rozsáhlém porušení mechanických i imunitních bariér hostitele. V přírodě mají funkci exosaprofytů kosmopolitně osidlující trus, půdu či tlející rostlinný substrát (Pitt et Hocking 2009).

Lékařsky významné askomycety se často vyskytují v půdě a kontaminují nejrozličnější potraviny. Vzácností není ani fakultativní fytoparazitismus (*Fusarium*, *Cladosporium*). Mají septované mycelium a tvarově specifické konidiofory. T jsou nalézány v klinickém materiálu ojediněle (Sybren de Hoog 2015). Rod *Chaetomium* takovou výjimku tvoří. Někteří zástupci se uplatňují jako infekční agens imunokompromitovaných pacientů například s hematologickou malignitou. Na Sabouraudově glukózovém agaru (SGA) do deseti dnů většina druhů fruktifikuje. Morfologie narostlých plodnic je jejich významným určovacím znakem (Kubátová 2006). Mezi vláknitými askomycetami jsou také významní producenti toxinů včetně antimikrobních látek.

Lékařsky významné vláknité basidiomycety jsou konidiální stádia nebo mohou růst na standardně používaných kultivačních médiích v podobě sterilního mycelia. Makroskopické plodnice vytvoří většinou na Bramborovo dextrózovém agaru (potato dextrose agar = PDA) nebo na přírodním substrátu *in vivo*. Dokonce i A trzní jedlé dřevokazné houby, *Volvariella volvacea*, byla roku 2009 izolována z mozkové tkáně imunosuprimované pacientky s Hodgkinovým lymfomem a popsána jako příčina infekce vedoucí k exitu (Salit et al. 2010).

1.2 KLINICKÝ VÝZNAM

VM mají pro člověka rozsáhlý klinický význam. Uplatňují se jako alergen, kontaminanty potravin, které produkují toxické sekundární metabolity, a také jako patogeny.

1.2.1 Alergie

Všudypřítomné spory vláknitých hub se uplatňují velmi významně jako exoantigenní noxy schopné vyvolat imunopatologické reakce typu I, III a IV (Krejsek et Kopecký 2004).

U I. typu se jedná o humorální reakci zprostředkovanou imunoglobuliny typu E (IgE). III. typ je založen na tvorbě imunokomplexů tzv. Arthusův typ. Je to rovněž humorální imunopatologická reakce charakterizována přítomností vyššího množství imunoglobulinu typu G (IgG). Reakce vzniká až po vytvoření dostatečného množství IgG, tedy asi po dvou týdnech. IV. typ imunopatologické reakce je přecitlivělost pozdního typu, která se projeví až za 12–48 h po expozici alergenu. V krevním séru nejsou volné imunoglobuliny. Imunopatologická reakce je zprostředkována T-lymfocyty. U hub je běžná zkřížená reaktivita, kdy alergik většinou reaguje na několik různých druhů vláknitých hub současně (Horner et al. 1995).

Základní příčinou vzniku astmatu jsou alergenys uvolňované v průběhu klíčení asexuálních spor. Předchozí studie naznačují, že konidie uvolňují větší množství alergenů až po vyklíčení v respiračním traktu než před ním. Typickými alergeny jsou druhy *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Epicoccum nigrum*, *Exserohilum rostratum*, *Penicillium chrysogenum*, *Stemphylium botryosum*, *Curvularia lunata*, *Trichoderma viride* a *Bipolaris spicifera* (Green et al. 2003). Mnoho druhů alergenních VM produkují nejrozumnější toxické sekundární metabolity včetně antifungálních i antibakteriálních látek.

1.2.2 Intoxikace sekundárními metabolity

Kontaminace potravin vede k jejich znehodnocení díky biochemické aktivitě některých druhů VM. Toxické sekundární metabolity inhibují růst konkurenčních mikroorganismů. Vůči některým mykotoxinům jsou vnímaví i obratlovci (Bennett et Klich 2003).

Producenti toxinů patří v drtivé většině mezi anamorfní askomycety. Nejznámějšími toxigenními rody jsou *Alternaria*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Aspergillus* a *Fusarium*. Přehled nejznámějších toxigenních VM způsobující alimentární intoxikace v humánním a veterinárním lékařství je uveden v **Tabulce 5**.

Druh	Toxin	Nejčastěji kontaminovaná potravina
<i>A. flavus</i>	aflatoxiny B1, kys. cyklopiazonová, kys. koji, kys. aspergilová	cereálie, arašídy, koření
<i>A. fumigatus</i>	gliotoxin, verruculogen, fumitremorginy	skladované ovoce a zelenina
<i>A. fischerianus</i>	verruculogen, afumitremorginy	skladované živočišné, rostlinné produkty
<i>A. niger</i>	naphtho-4-pyrony, malforminy	černý čaj
<i>A. nidulans</i>	sterigmatocystin	potraviny různého původu
<i>A. nomius</i>	aflatoxiny B1 a 2, G1 a 2, nominin, kys. koji, kys. aspergilová	pšenice
<i>A. ochraceus</i>	ochratoxin A, kyselina peniciliová, viomelleinu xanthomegninu,	potraviny různého původu
<i>A. oryzae</i>	Kyseliny: cyklopiazonová, koji, 3-nitropropionová	asijská jídla, ovoce
<i>A. parasiticus</i>	aflatoxiny B1,2 a G1,2 kys. koji, kys. aspergilová	suché plody, ořechy
<i>A. pseudotamarii</i>	aflatoxiny B, kyseliny: cyklopiazonová a koji	suché plody, čaj
<i>A. sojae</i>	kyseliny: aspergilová, koji	asijská jídla
<i>A. tamarii</i>	kyseliny: cyklopiazonová, koji	dovážené suché plody, čaj
<i>A. versicolor</i>	sterigmatocystin, nidulotoxin	potraviny různého původu
<i>A. wentii</i>	emodin, wentilacton	jižní a tropické ovoce
<i>A. clavatus</i>	patulin, cytochalasin E	potraviny, krmiva rostlinného původu
<i>A. candidus</i>	terphenyllin, xanthoascen	cereálie
<i>Alternaria alternata</i>	AAT (alternaria alternata toxin), kyselina tenuazonová, alperisiny, alternariol, alternariol monomethyl ether, altertoxiny I, II, III	plodová zelenina
<i>A. citri</i>	Toxin I. (19 uhlíkatý polyalkohol s α -dihydropyronovým kruhem)	citrusy
<i>Paecilomyces variotii</i>	patulin, viriditoxin	potraviny, krmiva různého původu
<i>P. niveus</i>	patulin	ovoce, hlavně jablka a jejich produkty
<i>Penicillium</i>	botryodiploidin, kys.	různé druhy ovoce

<i>brevicompactum</i>	mykofenolová, brevianamid A	
<i>P. canescens</i>	griseofulvin	orechy, luštěniny, cereálie, sýry
<i>P. commune</i>	Kyselina cyklopiazonová, rugulovasiny A a B (podobné námellovým alkaloidům)	sýry, sušené mléko, orechy, zakysaná smetana, masné produkty (5 % NaCl)
<i>P. citreonigrum</i>	citroviridin	rýže, obiloviny
<i>P. digitatum</i>	tryptoquivaliny	citrusy
<i>P. islandicum</i>	cyklochlorotin, luteoskyrin, erythroskyrin	obiloviny, rýže
<i>P. italicum</i>	kys. italiková, verrucolon	citrusy
<i>P. chrysogenum</i>	roquefortiny, kys. penicilová	ovoce (peckoviny), sladká zelenina (mrkev, meloun), cereálie
<i>P. crustosum</i>	penitrem, roquefortin C, kys. terestrová	ovoce (jablko, hruška), zelenina, cereálie
<i>P. variable</i>	rugulosin	cereálie
<i>P. griseofulvum</i>	patulin, griseofulvin, kys. cyklopiazonová, roquefortin C	cereálie, orechy, sušené ovoce a zelenina, sladké pečivo
<i>P. janczewskii</i>	griseofulvin, penitrem A	orechy, luštěniny, cereálie
<i>P. janthinellum</i>	janthitremy	sušené jižní ovoce
<i>P. expansum</i>	patulin, citrinin, chaetoglobosin C, roquefortin C	jablko, hrušky
<i>P. miczynskii</i>	citrinin, citroviridin	ovoce, zelenina (vč. sušené)
<i>P. solitum</i>	cyklopenin, cyklopenol, kompaktin	jablko, hrušky
<i>P. viridicatum</i>	xanthomegnin, viomellein, vioxanthin, kys. viridová	cereálie, různé ovoce (hroznové víno)
<i>P. kloeckeri</i>	rugulosin	
<i>P. oxalicum</i>	kyselina sekalonová D, oxalin, roquefortin C.	tropické plodiny
<i>P. citrinum</i>	citrinin	soja, cereálie, káva, sušené ovoce
<i>Fusarium culmorum</i>	trichotheceny, zearalenon, butenolid, culmorin a fusarin C	obiloviny
<i>F. acuminatum</i>	butenolid, antibiotikum Y, chlamydosporol, moniliformin, trichotheceny	suché plody
<i>F. avenaceum</i>	antibiotikum Y, chlamydosporol, moniliformin, fusarin C	obiloviny

<i>F. dimerum</i>	trichotheceny, zearalenon, butenolid, culmorin, fusarinu C	obiloviny
<i>F. equiseti</i>	trichotheceny, zearalenon, equisetin, fusarochromanon	tropické ovoce
<i>F. incarnatum</i>	zearalenon, equisetin, fusapyron	jižní ovoce
<i>F. poae</i>	trichotheceny B, butenolid a fusarin C	obiloviny
<i>F. proliferatum</i>	fumonisin, kys. fusarová, fusarin C, fusaproliferin, fusapyron, moniliforminu, naftochinony	fíky, rýže, kukuřice
<i>F. solani</i>	kys. fusarová, naftochinony	potraviny rostlinného původu, ovoce (banány)
<i>F. tricinctum</i>	butenolid, antibiotikum Y, chlamydosporel, enniatiny, fusarin C	obiloviny, luštěniny
<i>Emericellopsis terricola</i>	cephalosporiny aj. antibiotika	houby
<i>Trichoderma harzianum</i>	chrysophanol, koniginin	potraviny rostlinného původu
<i>T. viride</i>	trichodermin, emodin	potraviny rostlinného původu

Tabulka 5: Přehled nejčastějších toxigenních VM (vytvořeno z Pitt et Hocking 2009)

Aflatoxiny (AFT) jsou jedny z nejvýznamnějších mykotoxinů produkované VM. Jejich producenti se dají rychle biochemicky prokázat pomocí par NH_4OH . Při pozitivitě má opačná strana misky růžové zbarvení (Saito et Machid 1999). Nejsilnějšími producenty AFT jsou některé druhy aspergilů sekce Flavi: *A. bombycis*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. pseudotamarii*, *A. nomius* (Frisvad et al. 2018; Peterson et al. 2001). Chemicky jsou AFT odvozené od difuranokumarinového skeletu. Účinek AFT B_{1,2} i G_{1,2} je kancerogenní, teratogenní i mutagenní. Nejčastější AFT B₁ je nejsilnější dosud známý přírodní kancerogen (Madrigal-Santillán et al. 2010). Produkce AFT je závislá na teplotě, vlhkosti, okysličení a chemickém složení substrátu, který houba využívá k růstu. Akutní intoxikace může vést k Reyovu syndromu, zánětu jater, hepatocelulárnímu karcinomu, kwashiorkoru a imunitní insuficienci.

Citreoviridin je fotolabilním sekundárním metabolitem *Penicillium smithii*, *P. citreonigrum* a *P. miczynskii*. Vyvolává intoxikaci se symptomy simulující akutní hypovitaminózu B₁ beri-beri s křečemi a významnou srdeční arytmií, která může skončit zástavou srdce v diastole. Narozdíl od pravé beri-beri je však „Otrava ze žluté rýže“ rezistentní k léčbě thiaminem (da Rocha et al. 2015).

Dosud bylo izolováno 7 typů fumonisinů (FMS): A₁, A₂, B₁, B₂, B₃, B₄, C₁. *F. proliferatum* produkuje FMS A₁, A₂, B₁ - B₄ (www.biotox.cz). Nejvýznamnější a také

nejčastější je FMS B1 (Cendoya et al 2018). Prekursorem jeho biosyntézy je alanin (Branham et Plattner 1993). FMS vyvolávají leukoencefalomalacie koní a zhoubné nádory jater u laboratorních potkanů. FMS jsou promotory kancerogeneze (Smith et al 2002; Burger et al. 2018). Inhibují biosyntézu sfingolipidů (sfingomyelinu a glykosfingolipidů), které se vyskytují z větší části v nervové tkáni. Mají také imunotoxické a teratogenní účinky (Wang et al. 2016). *Alternaria alternata* var. *lycopersici* produkuje alperisiny, které se strukturně fumonisinům podobají (Brandwagt et al. 2001).

Kyselina cyklopiazonová je významným toxinem objeveným již v roce 1968. Je sekundárním metabolitem *Penicillium griseofulvum*, *P. commune* a některými zástupci *Aspergillus* sekce Flavi (Pitt et Leistner 1991). Podstatou toxického účinku jsou změny v transportu iontů vápníku vedoucí k osmotické buněčné smrti. Při podání per os dochází k degeneraci myofibril, myokardu i hladké svaloviny GIT (Seidler et al. 1989).

Ochratoxin A je nejvýznamnější a nejrozšířenější ze všech ochratoxinů. Jeho hlavními producenty jsou především druhy *Aspergillus* komplexu *ochraceus*, ale také *A. carbonarius*, *A. niger* a *Penicillium verrucosum*. Ochratoxin A je účinný inhibitor proteosyntézy. Primárním cílovým orgánem ochratoxinu A je vyvíjející se centrální nervový systém (CNS). Hlavním účinkem na makroorganizmus je imunitní nedostatečnost a nefrotoxicita (Bui-Klimke et Wu 2014).

Patulin byl ve 40. letech popsán jako antibiotikum a terapeuticky využíván až do objevení kancerogenity. Dnes je považován za významný mykotoxin. Je produkován především druhy *Penicillium griseofulvum* a *P. expansum* (Saurabh et al. 2017).

Luteoskyrin je hepatotoxický a kancerogenní produkt *Penicillium islandicum*. Blokuje v buňkách enzymy oxidativní fosforylace. Nejvýznamnější kontaminovanou potravinou je rýže (Ueno 1995).

Xanthomegnin je genotoxický a teratogenní sekundární metabolit většiny kmenů *Penicillium viridicatum*, který často kontaminuje rýži (Peterson et Grove 1983).

Sterigmatocystin je produkován *Aspergillus nidulans* a *A. versicolor*. Je hepatotoxický a kancerogenní, avšak pouze asi z desetiny oproti aflatoxinům (Yu et Leonard 1995; <http://www.biotox.cz/toxikon/mikromycety>).

Tremorgeny patří mezi nejtoxičtější mykotoxiny. Mají silný neurotoxický účinek. Jsou chemicky heterogenní skupinou. Tyto látky vykazují aktivitu k CNS. Jedná se ve většině případů o deriváty indolu. Základními představiteli skupiny jsou penitremy A-E. Penitrem A byl izolován z *P. cyclopium*, *P. palitans*, *P. crustosum*, *P. commune*. Během 5 minut se

dostavuje několik hodin trvající tremor přecházející v klonické a tetanické křeče končící smrtí. Dalšími symptomy jsou zrychlené dýchání, slzotok, mydriáza (Walter 2002). Podobnou aktivitu vykazují také fluorescentní tremorgenní toxiny, jantitremy skupin A–C z *P. janthinellum*, k nimž jsou vnímaví především býložravci (Gallagher et al. 1980). Dále se mezi ně řadí roquefortiny. Izolovány byly původně z *Penicillium roquefortii*, který se cíleně očkuje do zrajících sýrů jako kulturní druh houby (Chen et al. 1982). V toxických koncentracích jsou však produkovány druhy *P. crustosum* a *P. oxalicum* (Mantle et al. 1981).

Trichoteceny (TCH) jsou estery seskviterpenických alkoholů obsahujících trichothecenový tricyklický systém. TCH A nemají v poloze C8 ketoskupinu a TCH B ji v poloze C8 mají. Intoxikace TCH A se projevuje u lidí idomácích zvířat bolestmi hlavy, závratěmi, tremorem, nauzeou, zvracením a zrakovými poruchami. Biologicky aktivnější jsou trichoteceny B, jejichž významným producentem je *F. poae*. Trichoteceny B způsobují alimentární toxickou aleukii. Další skupinou jsou satratoxiny. Předními producenty jsou např. *F. culmorum*, *F. acuminatum* či *F. dimerum*. Satratoxiny jsou účinné inhibitory proteosyntézy. Jsou toxické pro GIT a imunotoxické (Nesic et al. 2014).

Zearalenony jsou laktony kyseliny β -resorcylové. Jsou to analoga estrogenních hormonů. Jak název napovídá, byly poprvé objeveny v kukuřici infikované fusarií. Předními producenty jsou druhy *F. culmorum*, *F. incarnatum* a *F. graminearum*. U savců způsobují zearalenony hyperestrogenismus, který se projevuje hyperémií vaginální sliznice s kalným výtokem, hypertrofickou prsní žlázou a bradavek v těžších případech až prolaps vaginy a rekta. U samců je charakteristickým symptomem atrofie varlat. Nejvážnější jsou prasata. Následuje infertilita, popř. abortus. I když zearalenonová intoxikace nevede přímo k úhynu, hovězí dobytek často podléhá bakteriální infekci vyhřezlých genitálií. Při fusariové kontaminaci obilovin dochází ke společnému výskytu zearalenonu a trichothecenů, a proto intoxikace mohou být provázeny sdruženými symptomy. Zearalenony sice nejsou kancerogeny, ačkoli podporují buněčné dělení vzniknuvšího karcinomu. Jsou ve skladovaném obilí velmi stabilní i po tepelném zpracování mouky či fermentaci. Zearalenony jsou uvolňovány do mléka krav krmených kontaminovanou stravou, což by mohlo představovat biologické riziko u dětí. V experimentech zjištění rizika u lidí byly použity ovariectomizované dospělé opičí samice, ale nebyl zjištěn hormonální efekt při příjmu nižším než 50 μ g zearalenonu/kg tělesné hmotnosti denně (www.biotox.cz).

1.2.3 Infekce způsobené VM

VM podle druhu způsobují různě závažná onemocnění (mykózy) od lokálních až po systémová. Překročením oslabených imunitních bariér přešly komenzální VM k parazitismu. Klíčovou schopností invaze a vyloučení imunitní odpovědi jsou specifické molekulární interakce mezi houbovým patogenem a jeho hostitelem (Remmele et al. 2015). Lékařská mykologie rozlišuje klinicky významné VM do pěti funkčně morfologických skupin: entomophthoromycety (E), zygomycety (Z), dermatofyta (D), hyalinní hyfomycety (HH) a pigmentované hyfomycety (PH).

E způsobují entomophthoromykózy u imunosuprimovaných pacientů poměrně vzácně. Poněkud častěji působí infekce v tropech. Rod *Conidiobolus* způsobuje rhinofaciální, podkožní či kožně slizniční infekci známou jako entomophthoromycosis conidiobolae. Vyskytuje se v severní Evropě, Indii, východním pobřeží USA a západních částech Afriky. Vstupní branou infekce je nosní sliznice při aspiraci sporangiospor nebo drobné kožní poranění z kontaminované půdy. Podkožní léze progreduje a bez léčby se může rozšířit i na vnitřní orgány (játra, ledviny, GIT). Patogenní zástupci pro obratlovce byly popsáni *Conidiobolus coronatus*, *C. incongruus* a *C. lamprauges*. *Conidiobolus coronatus* byl poprvé identifikován jako původce granulomatózní choroby u koně v Texasu v roce 1961. *Basidiobolus* způsobuje onemocnění entomophthoramycosis basidiobolae. Probíhá pomaleji a málokdy progreduje do disseminované formy. *Basidiobolus ranarum* byl popsán z živočišných a ekologických zdrojů už v roce 1886. Vstupní branou je vždy kožní poranění kontaminované infekční částicí. Patogenní druhy jsou *Basidiobolus ranarum*, *B. haptosporus*, *B. meristosporus* (Ribes et al. 2000; Shaikh et al. 2016).

Z jsou saprofyty či saproparazité rychle prorůstající substráty bohaté na sacharidy. V Roth Island v USA byl zaznamenán případ kožní smíšené infekce *Enterobacter cloacae* a *Mucor sp.*, která se po kousnutí psem vyvinula u 50leté diabetičky léčené amoxicilinem. Rána byla úspěšně léčena kombinací karbapenemových ATB a lipozomálního amfotericinu B (Zachary et al. 2011).

Z způsobují rychle progredující infekce (zygomykózy, mucormykózy) u somaticky či imunitně oslabených pacientů. Vstupní branou infekce je nejčastěji otevřená rána. Jejich hyfy mají afinitu ke stěnám cév, do kterých rychle prorůstají, zvláště u diabetiků s vysokou hladinou glukózy v krvi. Vzniká tak živý trombus (spleť hyf, trombocyty, lymfocyty), který může způsobit obstrukci s následnou rupturou cévy a infarktací tkáně, která je postiženou cévou zásobena (Ibrahim et al. 2012). Systémové zygomykózy se nejčastěji diagnostikují *post mortem* (Skiada et al. 2011).

Bylo potvrzeno, že invazivní mukormykózy způsobují kromě *Rhizopus oryzae* a *R. microsporus*, *Mucor* a *Lichtheimia*, také *Rhizomucor*, *Apophysomyces*, *Saksenaea*, *Cunninghamella*, *Cokeromyces* a *Syncephalastrum spp.* Z původní asymptomatické kolonizace přešly Z k parazitismu a infekciozitě (Ribes et al. 2000).

Ascomycety vyvolávají mykózy postihující člověka i ostatní živočichy. K onemocnění jsou náchylnější osoby s imunodeficitem, kdy k infekci stačí i malé množství inhalovaných konidií (Beneš 2009). HH se uplatňují jako oportunní patogeny. Patří sem např. anamorfní rody *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Scopulariopsis* (de Hoog 2000).

Při invazivních aspergilózách jsou vstupní branou infekce převážně plíce. Onemocnění mohou u člověka vyvolat druhy *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans* a *A. niger* (Kodoušek 2003). Invazivní aspergilóza se téměř výhradně vyskytuje u imunosuprimovaných pacientů. Může postihovat všechny lidské orgány a obvykle se diagnostikuje post mortem (Muntau 2009; Greenwood 1999).

D jsou půdní houby se schopností enzymaticky degradovat keratin. Mohou růst kdekoli na svrchních vrstvách epidermis a kožních adnexech, kde vyvolávají různé rozsáhlé patologické změny. Preference hostitele je u jednotlivých D odlišná, některé druhy jsou spíše zoofilní, jiné zase antropofilní a jsou záznamy i o oboustranném přenosu (Kuzhwaha et Guarro 2000). Švýcarská studie řešila lokální epidemii dermatomykózy studentů veterinární školy a koně. Sekvence DNA a fenotypová charakteristika prokázaly shodný kmen houby u ošetřovatelů i zvířete. Zdrojem původce, *Trichophyton mentagrophytes* (T: *Arthroderma vanbreuseghemii*), byl kůň (Chollet et al. 2015).

PH rostou v tmavě zbarvených koloniích, neboť v buněčných stěnách mají obsažen melanin. Rody s menším zoopatogenním, ale často s větším fytopatogenním významem jsou *Alternaria*, *Aureobasidium* či *Cladosporium* (Larone 1995).

1.3 DIAGNOSTIKA HOUBOVÝCH INFEKČÍ

Odebraný klinický materiál by měl být doručen do mikrobiologické laboratoře nejlépe do dvou hodin nebo musí být uložen do chladničky. Přítomnost VM v makroorganismu lze prokázat několika vzájemně se doplňujícími způsoby přímé detekce, a to kultivací, mikroskopií, sérologicky (průkazem antigenů, případně protilátek) a molekulárně genetickými metodami (Kocmanová et al. 2007).

Pro průkazu mykotických infekcí lze odebrat různé druhy klinického materiálu, například hemokulturu, mozkomíšni mok, bronchoalveolární laváž, sputum, moč, stolici, stěry ze sliznic a kožních lézí (Buchta 2010).

1.3.1 Kultivace *in vitro*

In vitro kultivace VM je základní technikou detekce lokálních i systémových mykóz. Včetně patogenních druhů jsou kultivačně různě náročné. Z pevných půd je základním médiem pro růst hub Sabouraudův glukózový agar (SGA), k němuž se obvykle přidává širokospektré ATB, chloramfenikol, inhibující růst bakterií (SGA2), případně další přídavek cykloheximidinu inhibující růst rychle rostoucích VM (SGA3), čímž je dán prostor pro růst především dermatofyt (Jedličková 2006). Standardní kultivační teplota je 25–30 °C. Kultivační doba vzhledem k různé rychlosti růstu se v závislosti na taxonu často liší (Fragner 1984). Identifikace většiny lékařsky významných druhů je možná již za 20 hodin od inokulace. Lékařsky významné zygomycety jsou kultivačně nenáročné. doporučená média pro kultivaci jsou sladinový agar (SLA) se stupni cukrnatosti 4° a 8° dle Balinga (SLA4, SLA8) (Kubátová et Váňová 2009), dále agar s maltextraktem (MEA), bramborodextrózový agar (PDA), Sabouraudův glukózový agar (SGA). Zygospory se tvoří obvykle při 20 °C. U anamorfních druhů je kultivační doba různá. Doporučená média u řádu Eurotiales jsou Czapkův agar (CZA), Czapkův agar s kvasničným extraktem (CYA) a malt extract agar (MEA) (Kubátová 2006).

1.3.2. Mikrokultivační technika

Jako prevence mechanického poškození preparátu se používá mikrokultivace (Otčenášek 1990). Z vhodného kultivačního média je vyříznut čtvereček agarové hmoty, který je pak přenesen na prázdnou Petriho misku. Poté je naočkován z boku a překryje se krycím sklíčkem. Výsledkem je potom nepoškozené mycelium se zvýšenou vizualizací charakteristických morfologických struktur určovaného druhu houby (Skořepová 2008).

1.3.3 Mikroskopie

Mikroskopie je v mykologii velmi významnou technikou sloužící k rychlé diagnostice. Pomocí mikroskopie je možné u některých typů vzorku zjistit, nejedná-li se o kontaminaci (Koukalová et al. 2011).

Mikroskopické vyšetření v lékařské mykologii prokazuje houbové struktury v klinickém materiálu. Pro přímou detekci se používá nativní preparát nebo preparát v histologickém řezu. V nativním preparátu lze pozorovat živé hyfové struktury, kdežto v histologických preparátech může být prokázáno jen prorůstání tkáně bez bližšího určení druhu. Pomocí nativního preparátu s Melzerovým činidlem lze v kapce fyziologického roztoku pozorovat struktury VM, ale také amyloidní či dextrinoidní spory. Dalším příkladem nativního preparátu je louhový preparát, u něhož se místo fyziologického roztoku používá 10% či 20% roztoku KOH nebo NaOH, aby byl klinický materiál bohatý na keratin rozrušen. Používá se při průkazu dermatomykóz, onychomykóz, ale také při pozorování houbových buněk ve vzorcích živé tkáně. Přidáním Parkerova inkoustu, který se váže na chitinová vlákna, k louhovému preparátu je navíc dosaženo výrazně modrého obarvení buněčné stěny a visibilizace jemných struktur v myceliu, např. přezek v hyfách basidiomycet (Otčenášek et al. 1990). Bavlníkovou modří lze zvýraznit konidiofory. Laktofenol pak prodlužuje trvanlivost preparátu.

U fluorescenčních metod se v nativním louhovém preparátu používá jen 2% vodný roztok NaOH s přidáním specifických fluorochromů (Blankophor, Rylux BSU). Fluorochromy se pevně vážou na chitin v buněčné stěně, které pak ve fluorescenčním mikroskopu v modrém dopadajícím světle (ve filtru BG 12, KP 490 + B 229, C. Zeiss Jena) přes oranžový bariérový filtr (OG 1, OG 4 či G 247) na tmavém pozadí preparátu září žlutozeleně (Otčenášek et al. 1990).

1.3.4 Sérologie

Probíhající mykotickou infekci mohou včas odhalit také metody sérologické. Vzhledem k rychlosti a citlivosti se těchto metod využívá jen při podezření na systémové onemocnění. Pro zlepšení prognózy systémové mykotické infekce je totiž včasná diagnóza nezbytná. Pro sérologický průkaz se jako klinický materiál používá nejčastěji krevní sérum, BAL či punktát ze zánětlivého ložiska (Koukalová et al. 2011).

Sérologie infekcí způsobenými VM je vysoce specifická. Detekují se antigeny (Ag) patogena nebo protilátky hostitele. Nejčastěji se prokazují jako markery Ag buněčné stěny

hub např. u aspergilóz galaktomannan. Ze sérologických technik se za tímto účelem používají „enzyme-linked-immunosorbent essay“ (ELISA) a latexová aglutinace (Jedličková 2006).

Mykotoxiny jsou faktory virulence hub, které hrají důležitou roli v patogenezi houbových infekcí. Produkce xanthomegninu byla použita jako diagnostický marker pro včasnou diagnostiku hluboké oční mykózy. Výsledek byl pozitivní u některých izolátů *Aspergillus flavus* (Ozdemir et al. 2016).

K průkazu Ag, který zahrnuje spektrum původců mykotických infekcí na úrovni taxonomického oddělení, je panfungální metoda detekce (1→3)-β-D-glukanu. Ag je zde polysacharid obsažený v hojném množství v buněčné stěně askomycet. U většiny basidiomycet se vyskytuje v buněčné stěně také, ale není štěpen β-glukanázami během období nedostatku zdroje uhlíku. U Z zcela chybí. K vlastní detekci se používá lyzátu z amébocytů ostrorepa druhu *Limulus polyphemus*. (Kocmanová et al. 2007).

1.3.5 Molekulárně biologické metody

Molekulárně genetických metod se v lékařské mykologii využívá při podezření na patogena, kterého je nutné co nejrychleji odhalit nebo kvantifikovat počet infekčních částic v tělních tekutinách, míru napadení tkáně, geny rezistence na antifungální látky. Materiál pro stanovení mikrobiální DNA je doporučeno uchovávat při pokojové teplotě do 24 hodin od odběru, dále pak v chladničce při 2 –8 °C (zhruba do jednoho týdne od odběru). Pro delší časový interval se klinický materiál obvykle archivuje při teplotě v rozmezí -18 až -20 °C (<https://ulbld.lf1.cuni.cz/file/667/Mikrobiologie.pdf>).

Metodou pro účinnou detekci a kvantifikaci základních infekčních agens houbového původu je polymerázová řetězová reakce (PCR), která umožňuje rychle a přesně rozeznat cílové sekvence DNA v klinickém vzorku (Lengerová et al. 2009). Vyšetřovaným klinickým materiálem u invazivních aspergilóz je nejčastěji krev nebo krevní sérum. Průkaz aspergila z BAL je citlivější než z krve (Buchheidt et Hummel 2005).

PCR mnohonásobně nakopíruje DNA patogena. Její princip spočívá v opětovné replikaci úseku DNA, který je vymezen specifickými primery. K tomu se využívá termostabilní DNA polymerázy izolované z bakterie *Thermus aquaticus*. Amplifikace úseku DNA probíhá v termocykléru ve 3 stupních: 1. denaturace při 95 °C, rozvolnění ds DNA, 2. annealing při 40–62 °C, nasedání specifických primerů ke komplementárním úsekům templátové DNA a 3. extenze při 72 °C s následnou syntézou nového řetězce DNA. Tyto cykly se opakují 25–40 krát. Produkty PCR se detekují gelovou elektroforézou pomocí

polyakrylamidového agarózového gelu. Nukleové kyseliny mají záporný náboj a v elektrickém poli putují k anodě. Jejich původ je poté detekován pomocí činidel, jež se interkalují do DNA (např. ethidium bromid, Sybr Green). Po ozáření UV světlem tyto sloučeniny fluoreskují (Muyzer et al. 1993).

On line záznamem fluorescence se detekuje produkt DNA metodou kvantitativní PCR v reálném čase (RTq PCR), která využívá fluorescenčních sond či barviv. Ty pak detekují amplifikaci DNA během reakce zvýšením své fluorescenční aktivity. Její výhoda oproti konvenční PCR je možnost přesného určení výchozího počtu kopií příslušného úseku DNA, tedy schopnost kvantifikace. Výhodou je přesnější odečet intenzit fluorescenčního záření produktů než u kompetitivní PCR. Jejimi nevýhodami jsou pak dražší metodika, problémy se specifícností reakce a s interpretací výsledků (Avni et al. 2010).

Pomocí kompetitivní DNA lze identifikovat patogena z infikované tkáně za pomoci specifických primerů. Kompetitorem je definovaná DNA o známé koncentraci extrahovaná z houby izolované *in vitro* (Fredricks 2005).

Taq Man Real-Time PCR používá Taq Man sondu, což je specifický oligonukleotid s fluorescenční značkou na 3' konci a s vypínačem fluorescence na 5' konci. Touto metodou lze kvantitativně detekovat jakéhokoli patogena (viry, bakterie, houby) ve tkáni hostitele s odhadem míry infekce. Výhodou je vysoká míra specifíčnosti. Nevýhodou je značná finanční náročnost, a proto se rutinně v lékařské mikrobiologii nepoužívá (Nadkarni et al. 2002).

Metoda ligázové řetězové reakce (LCR) má podobný princip jako klasická PCR. Používají se ale primery tvořící pár a jsou komplementární ke dvěma úsekům stejného řetězce DNA (Wiedmann et al. 1994).

Sekvenace určuje primární strukturu DNA, tedy pořadí nukleových bazí. V mikrobiologii jsou většinou využívány dvě sekvenační metody: Maxam Gilbertova metoda – chemická (Maxam et Gilbert 2007) a Sangerova – enzymatická (Sanger et al. 1977).

Hybridizační metody jsou v mikrobiologii rovněž často používány pro svoji vysokou specifitu a nízkou citlivost. Patogenní houby jsou detekovány pomocí DNA sond narozdíl od bakterií, neboť bakteriální buňka obsahuje více RNA než DNA. Sondy jsou značeny fluorescenčním barvivem, radionuklidem, antigenem nebo enzymem. Izolovaná DNA je nejprve denaturována. Poté se smísí s ssDNA se specifickou sondou a promyje, aby nenavázané sondy byly odstraněny. Odečet probíhá pomocí fluorescenčního mikroskopu měřením intenzity fluorescence (Plíšková et al. 2007).

DNA čipování (DNA microarray) je poměrně finančně náročná technologie, která má v diferenciální mikrobiologické diagnostice značné uplatnění. Lze díky ní detekovat a identifikovat patogeny a stanovit rezistenci k antimikrobiálním látkám, typizovat izoláty a stanovit faktory jejich virulence. Aplikace DNA čipování pro genovou expresi mezi dvěma vzorky je poměrně spolehlivá. Nemůže však poskytnout přiměřený odhad skutečné kvantity mRNA. V současné době se pro studium bakteriálních druhů používají oba oligonukleotidové a PCR produkty. Krátké oligonukleotidové soustavy ale nemusí být vhodné pro srovnávací genomové studie pro organismy, které nejsou úzce příbuzné. Pozornost si zaslouží použití DNA čipování jako nástroje pro fylogenetické studie a identifikaci izolátů. U mnoha organismů metoda 16S rRNA často nedokáže skutečně odrážet jejich genetický potenciál. Tento problém může být vyřešen srovnáním genomovými metodami s celogenomovým čipováním v nepřítomnosti sekvencí genomu (Nsofor 2014).

Pro celogenomové sekvenování existují dva přístupy: celogenomové náhodné sekvenování (WGS) a sekvenování klon po klonu (CBCS). Při WGS je genomová DNA nejprve rozstříhána na fragmenty obvykle tří velikostí (2, 10 a 50 kb), které jsou pak klonovány do vhodného vektoru a vytvoří se knihovna. Následuje sekvenování v dostatečném pokrytí a poté sestavení sekvence pomocí počítačových programů. Při CBCS se genom rozdělí na velké fragmenty dlouhé asi 150 Mb, které jsou klonovány typicky za použití klonů BAC (bacterial artificial chromosome). Vytvoří se minimální sestava klonů vytvářející kontinuální sekvenci podél celého chromozomu. Tyto klony jsou rozštěpeny na krátké fragmenty (cca 500 bp) a sekvenovány pomocí WGS. Nakonec se provádí skládání sekvence počítačovým programem (<https://www.healio.com/hematology-oncology/learn-genomics/whole-genome-sequencing/whole-genome-sequencing-methods>; Adams 2008).

Celogenomová sekvenace výrazně zvyšuje pochopení infekčních chorob a klinické mikrobiologie. Vzhledem k současným omezením zdrojů a infrastruktury je WGS nejvhodnější pro použití v laboratořích veřejného zdraví, referenčních laboratořích a laboratořích spojených s kontrolou nemocničních infekcí. Vzhledem k tomu, že WGS představuje vrchol charakterizace kmene a epidemiologické analýzy, je pravděpodobné, že v blízké budoucnosti nahradí tradiční metody detekce genu rezistence a další šetření založená na sekvenaci (např. 16S rDNA PCR) (Kwong et al. 2015).

1.3.6 Kultivace *in vivo*

K přesnějšímu určení druhu, poddruhu či patotypu slouží pokus na živém objektu, který je vysoce specifický pro daný druh houby. U fytopatogenních hub je experimentální infekce vnímavé živé rostliny pro ověření druhu běžnou praxí. K přesnějšímu určování hub rodu *Penicillium* lze inokulovat jablko při podezření na tři druhy: *Penicillium expansum*, *P. solitum* a *P. crustosum*. Tyto druhy vyvolávají hnilobu jablek. Hnilobu citrusových plodů mají schopnost vyvolat druhy *Penicillium italicum* a *P. digitatum*, které lze odlišit makroskopicky dle pigmentu konidioforů. K experimentální infekci se využívá nejčastěji citrón. U mykoparazitických hub lze druhem *Cladobotryum mycophilum* infikovat plodnici makromycet, nejčastěji druh *Agaricus bisporus*. K průkazu entomofágních hub (*Beauveria bassiana*, *Isaaria farinosa*, *Metarhizium anisopliae*) se přidává na misku s médiem vydesinfikovaný hmyzí exoskelet. Pro dermatofyta je nejvíce vnímavé morče. Lze tak odhadnout invazivitu houbové infekce a zjistit citlivost na příslušnou antifungální látku *in vivo* (viz **Obr. 1**).



Obrázek 6: Experimentální infekce morčete *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*

Z etických důvodů se pokusní obratlovci rutinně neinfikují a každý takový experiment vyžaduje schválení etické komise.

1.4 PŘIROZENÁ HOUBOVÁ MIKROFLÓRA

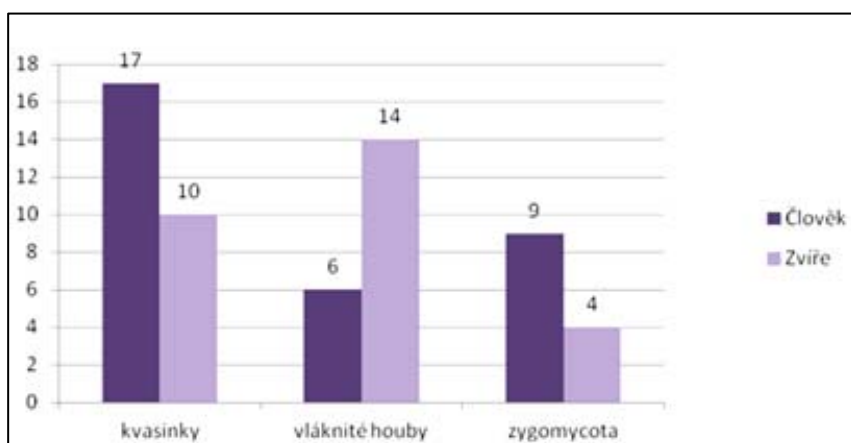
Savčí tělo je osidlováno širokou škálou mikrobiot, od nichž musí být imunitním systémem chráněno, což je důležité pro jeho normální funkci, udržování zdravých tkání a fyziologických

procesů. Často je pozornost věnována spíše bakteriální mikrobiotě, ale rostoucí počet studií podtrhuje přítomnost hub, které mohou být důležité i pro osídlení makroorganismu a jejich interakci s imunitními buňkami. Mykoorganismy jsou také významnou, i když podstatně menší, složkou mikrobioty savců. Tato houbová složka je nazývána mykobiotou. Komenzální bakterie jsou důležité pro vývoj a správnou funkci imunitního systému. Jednotlivé druhy mikroorganismů si navzájem konkurují o zdroje organických látek, čímž je udržován poměrně stálý druhový poměr bakterií a hub. Narušení této rovnováhy vede k dysbióze, ať už ve prospěch hub, nebo bakterií (Underhill et al. 2014).

Sekvenačními technikami bylo například zjištěno, že houby tvoří přibližně 0,1 % mikroorganismů ve střevě (Quin et al. 2010; Arguman et al. 2011).

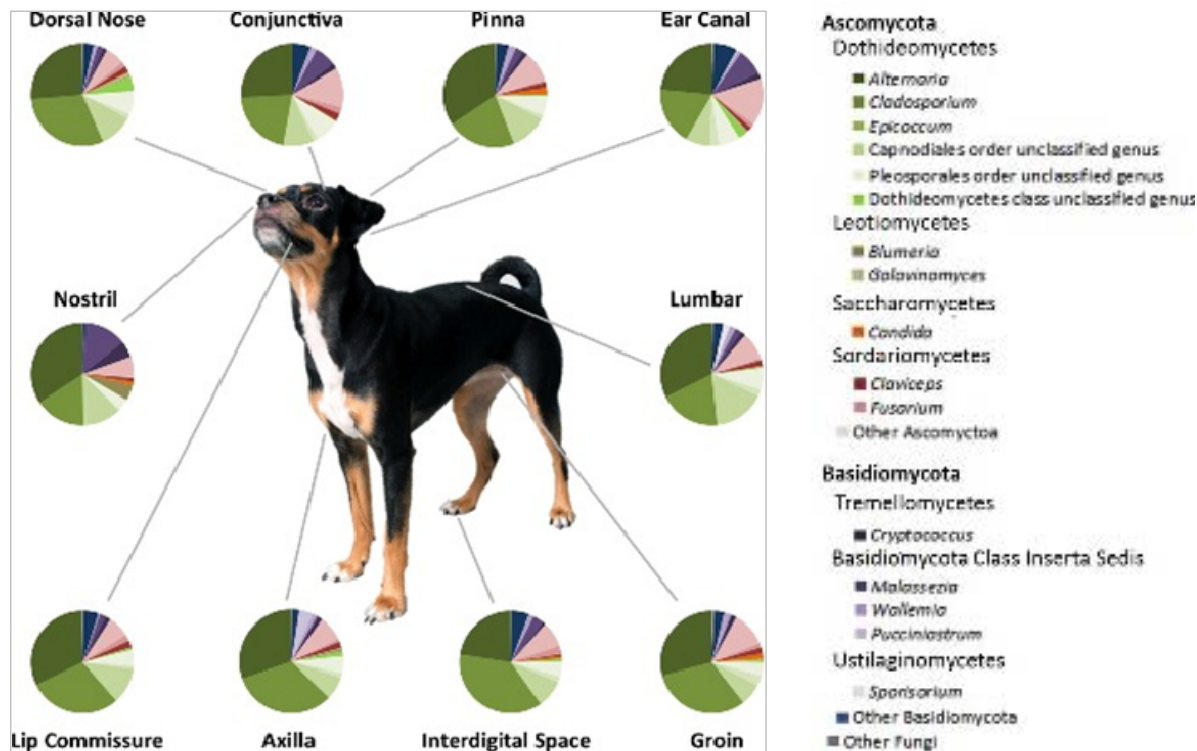
1.4.1 Mykobiota DM

Nejpopulárnějším zvířecím mazlíčkem v celé Evropě je pes díky své oddanosti a učenlivosti. Kočka si do jisté míry drží od majitele odstup. Je samostatnější než pes, a proto také v ČR klesá její popularita, a také intimita vztahu s majitelem nebývá tak úzká jako se psem, který je na majitele silně fixován. V naší nedávné studii (2017) bylo zjištěno, že bakteriální flóra se liší nejen mezi mazlíčkem a člověkem, ale i mezi mazlíčky navzájem (Wipler et al. 2017). Houbová flóra se naopak příliš neliší, neboť se jedná, v případě VM, většinou o půdní mikroorganismy. Kvasinky jsou často vázány na sliznice. Rozdíl je ale v kvantitě, tedy v poměru kvasinky: vláknité houby, které osidlují lidský a zvířecí makroorganismus (viz **Graf 1**) (Wipler et al. 2018).



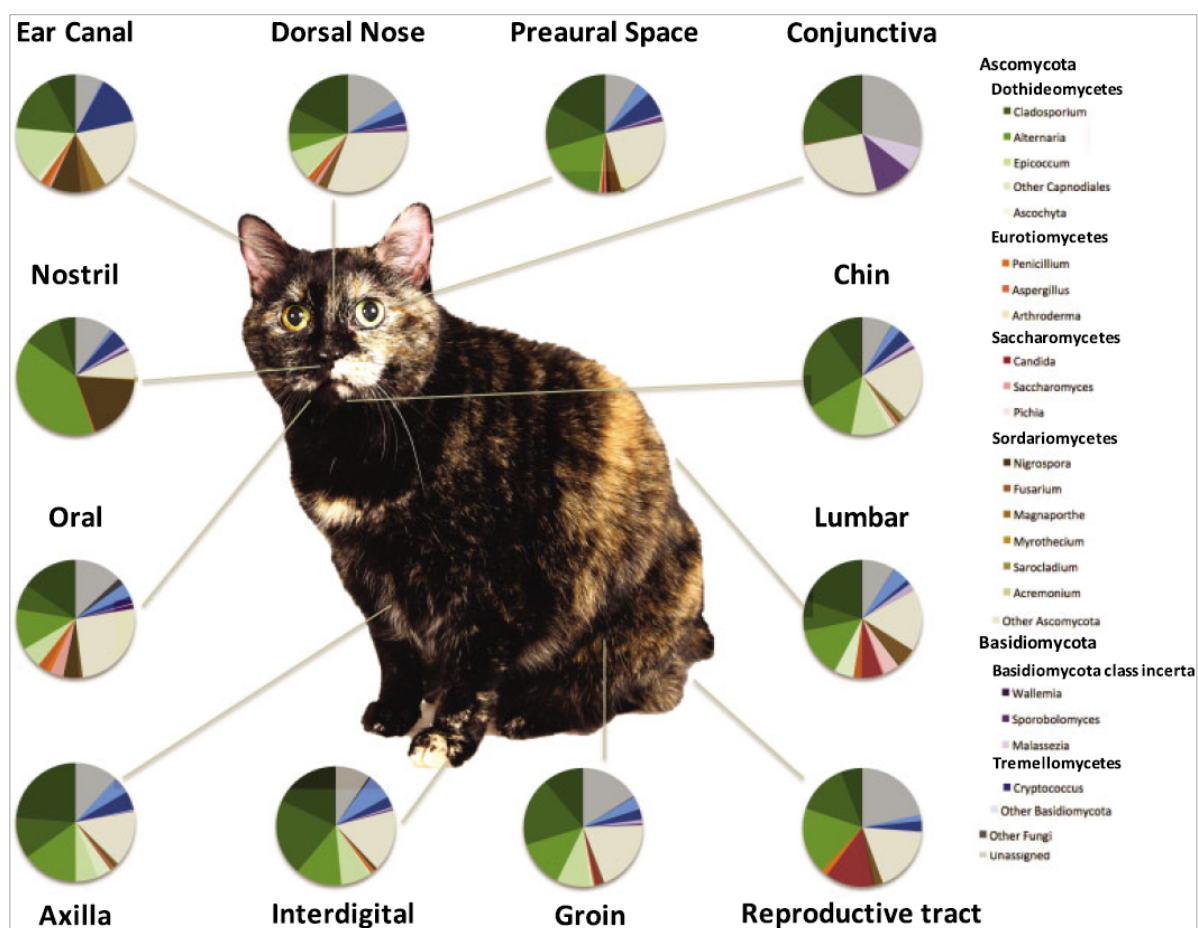
Graf 1: Kvantita mykobioty izolovaných hub z chovatele a DM (dle Wipler et al. 2018)

Mykobiota psů je velmi pestrá s ohledem na jejich etologii (viz **Obr. 7**). Často se na těle psů vyskytují i fytopatogeny. Takovými půdními VM jsou například rody *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Fusarium* či *Cladosporium* (Meason-Smith et al. 2015).



Obrázek 7: Spektrum mykobioty psa (dle Meason-Smith et al 2015)

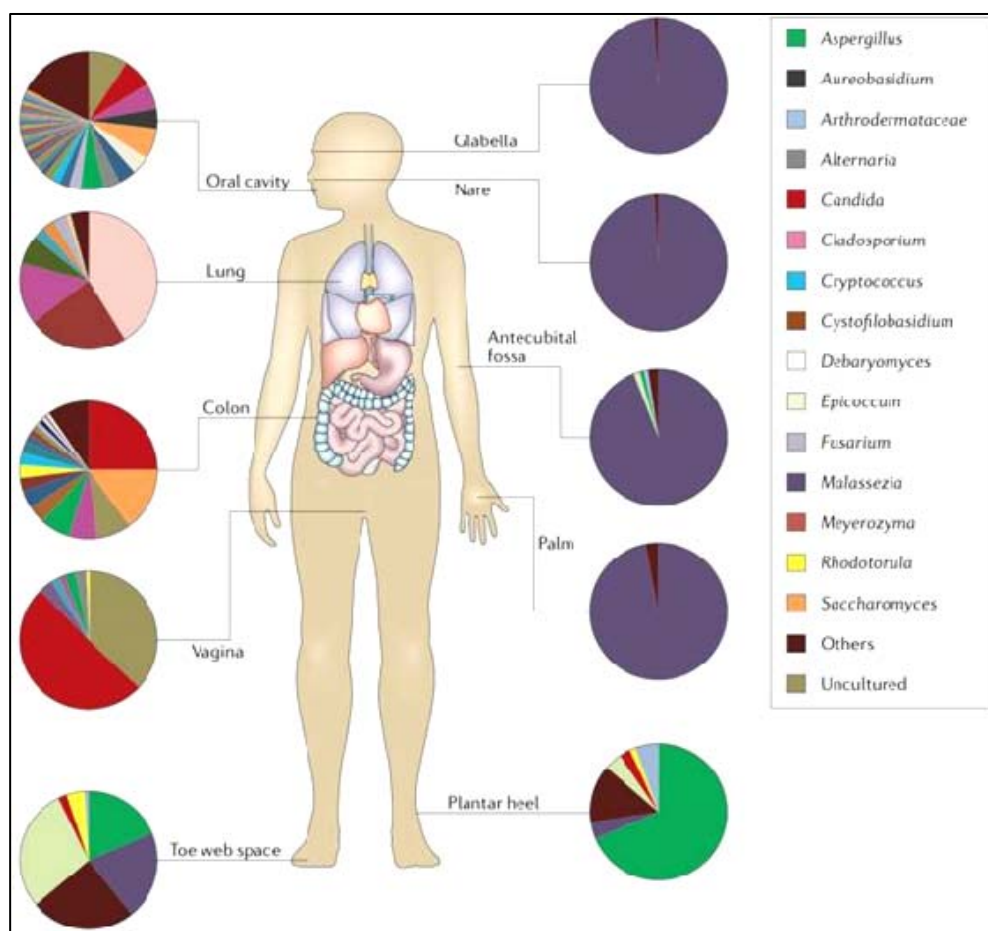
Mykobiota kočky je různá s ohledem na to, kde kočka žije. Kočky žijící trvale v domácnosti mají houbovou flóru výrazně chudší. I u koček se vyskytují rody *Alternaria* a *Cladosporium*, ale dominantní postavení v mykobiotě zde mají lipofilní kvasinky (viz **Obr. 8**) (Meason-Smith et al. 2017).



Obrázek 8: Spektrum mykobioty kočky (dle Meason-Smith et al. 2017)

1.4.2 Mykobiota člověka

Slizniční povrchy a kůže zdravých lidí jsou přirozeně osidlovány společenstvy bakterií a hub. Mykologicky nejbohatší se zdá být začátek a konec trávicí trubice. (Underhill et Iliev 2014). (viz **Obr. 6**). Interakce mezi houbami a bakteriemi pravděpodobně udržuje zdravé sliznice, jak dokládá synergický vztah mezi *Candida albicans* a perorálními streptokoky (Diaz et al. 2014).



Obrázek 9: Spektrum mykobioty člověka (dle Underhill et Iliev 2014)

Střevní dysbióza během prvních sto dnů života dítěte může vést k projevům atopického astmatu (Arrieta et al. 2018).

Nález VM z klinického materiálu může také svědčit o příležitostné a dočasné kontaminaci. Často se jedná i o infekční agens. Někdy není souvislost s mykotickým onemocněním zcela zřejmá. Záleží také na kvantitě kolonií, ale nezbytná je především verifikace vztahu izolovaného mikroorganismu k makroorganismu sérologickými metodami v kombinaci s klinickým obrazem (Hubka et al. 2014).

Ghannoum et al. (2010) ve své studii odebrali vzorky z ústní dutiny nekuřáků s použitím 15 ml fyziologického roztoku pufovaného fosfátem od 20 zdravých osob (ve věku 21–60 let, osmi žen a 12 mužů). Hloubková sekvenace ukázala, že ústní dutina obsahuje 74 kultivovatelných (nejhojnější rody: *Candida*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Saccharomycetales*) a 11 nekultivovatelných houbových rodů. Nízký výskyt některých hub ve vzorku zřejmě představuje kontaminaci orální sliznice z vnějšího prostředí. Rozmnožovací partikule kontaminujících hub se dostaly do ústní dutiny vdechnutím nebo požitím.

1.4.3 Cesty přenosu mykobioty člověka a DM

Blízký vztah DM s člověkem vede k oboustranné výměně mykobioty. Contact Index (CI) ukazuje míru intimity tohoto vztahu. Nosní sliznice byla vyhodnocena jako mykologicky i bakteriologicky nejchudším místem, ale díky olizování dochází k výměně mikrobiot obou makroorganismů. Je zde nejlépe zachytitelné sdílení druhů mikroorganismů. Tam, kam si DM (kočka, pes) dosáhne jazykem, sbírá rozmnožovací partikule VM, které jsou přeneseny na člověka. Také aktivním dotekem majitele (například hlazením) dochází pravděpodobně k výměně mykobioty. Často jsou mykoorganismy inokulovány na různé části těla, kde jsou schopny růst a využívat živiny. Suspektní léze na kůži či zánět sliznice jednoho z páru by mohly být způsobeny druhem VM druhého z páru, a proto je významné odebrat materiál i z těchto míst. Meziprstí nohou majitele je častým místem styku mikrobiot lidské a zvířecí, pokud spolu sdílí domácnost. Výměna se děje např. nošením obuvi psem v zubech nebo přímým kontaktem majitelových nohou s podlahou. Meziprstí nohou není tak často exponováno hygienickým a dezinfekčním prostředkům, navíc je místem vlhké zapářky, a proto je tak často kolonizováno mikroorganismy. Podpaží je rovněž místem, které je často osidlováno mikroorganismy. Cestou přenosu z mazlíčka na majitele je spaní ve společné posteli či chování v náruči. Do zvukovodu se rozmnožovací částice hub dostávají nejčastěji digitální autoinokulací drbáním či třením o půdní substrát a vzájemnou výměnou hlazením, drbáním společným hraním či olizováním (Wipler et al 2018; Wipler et al. 2017).

2. CÍLE PRÁCE

1. Monitoring biodiverzity VM kůže a sliznic člověka a DM
2. Porovnání počtu druhů VM u chovatelů a nechovatelů DM
3. Zjistit vliv ATB terapie na biodiverzitu VM na kůži a sliznicích chovatele a DM žijících ve stejné domácnosti
4. Zjistit vliv intimity kontaktu majitele a DM na počet sdílených druhů VM

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 PŘÍSTROJOVÁ TECHNIKA A MATERIÁLY

3.1.1 Přístrojová technika

- **Termostat** (Mettler; Německo)
- **Mikroskop** (Olympus BX 60; Japonsko)
- **MALDI-TOF** (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight, Bruker Daltonics GmbH; Německo)
- **hlubokomrazicí box** Sanyo (Schoeller; Česká republika)
- **liaminární box** EM 180 (MK Servis; Česká republika)

3.1.2 Kultivační média a jejich složení

Sabouraudův agar (SGA): glukóza 40 g, pepton 10 g, agar 15 g

Czapkův agar (CZA): K_2HPO_4 1 g, sacharóza 30 g, Czapkův koncentrát 10 ml, Cu-Zn koncentrát 1 ml, agar 15 g

Malt Extract Agar (MEA): malt extrakt 20 g, glukóza 20 g, pepton 1 g, agar 15 g

Sladinový agar (SLA): sladina (Primátor; ČR): 500 ml a více dle stupně cukernatosti; voda 500 ml; agar 15 g/l; autoklávování při 121 °C, 15 min.

Potato dextrose agar (PDA): agar, 15 g/l; dextróza, 20 g/l; potato extract, 4 g/l

SAB2 (Lab Media Servis; Česká republika)

SAB3 (Lab Media Servis; Česká republika)

PDA (Sigma Aldrich; Německo)

MEA (Sigma Aldrich; Německo)

CZA (Lab Media Servis; Česká republika)

CYA (Sigma Aldrich; Německo)

SLA4, SLA8 (vlastní výroba; ČR)

3.2 METODIKA

3.2.1 Odběr materiálu

Při všech odběrech na kultivační vyšetření byly použity sterilní odběrové pomůcky. Sběr vzorků probíhal v letech 2014 – 2017. Ze 125 domácností bylo odebráno 911 vzorků od chovatelů a jejich DM a 320 vzorků od kontrolní skupiny lidí, kteří nežijí s žádným zvířetem více než 12 měsíců. Všechny odebrané vzorky byly označeny číslem (1–125), písmenem (zvíře Z a chovatel CH) a lokalizací stěru. Anonymita testované osoby byla tímto zachována. Kontrolní skupina byla označena K1-80. Také účastníci kontrolní skupiny vyplnili dotazník.

3.2.2 Dotazníky

Každý chovatel vyplnil předložený dotazník, čímž zároveň poskytl i informovaný souhlas k zařazení do studie. Pro otázku č. 6 byl stanoven Contact Index (CI). Ten ukazuje na míru intimity kontaktu chovatele s DM. CI nabývá hodnot 1–8. Odpovědi a–c jsou hodnoceny po jednom bodu, d,e po dvou bodech a odpověď f za jeden bod.

A) MAJITEL

1. Anonymizující identifikace majitele se zvířetem (společné označení – např. protokolární číslo užívané veterinárními lékaři):
2. Pohlaví: ŽENA/MUŽ
3. Žijete s vyšetřovaným zvířetem ve společné domácnosti? ANO / NE
4. Jak dlouho sdílíte domácnost s testovaným zvířetem?
5. Jste majitel vyšetřovaného zvířete? ANO / NE
6. Kontakt se zvířetem – zakroužkujte prosím všechny platné možnosti a pokud možno přidejte další.
 - a) spaní ve společné posteli
 - b) gauč, křeslo
 - c) časté mazlení, chování v náručí apod.
 - d) olizování rukou, olizování obličeje
 - e) kousky jídla na vidličce apod., společný jogurt na lžičce
 - f) další (prosím uveďte)
7. Chováte více zvířat v domácnosti? ANO / NE

Pokud ANO, uveďte prosím druh a množství:

8. Užíval/a jste v posledních 12-cti měsících antibiotika? ANO/NE
9. Jaká:

B) ZVÍŘE

1. Kočka/Pes
2. Rasa:
3. Věk:
4. Pohlaví:
5. Původ zvířete:
 - a) Chovná stanice s PP
 - b) Bez PP
 - c) Útulek
 - d) Jiné (prosím uveďte)
6. Čím je zvíře krmeno
 - a) Syrová strava
 - b) Vařená strava
 - c) Granule
 - d) Kombinace výše uvedeného
 - e) Jiné (prosím uveďte)
 - f) Oblíbené pochoutky zvířátka
 - g) Konzumuje venku trávu a podobně ?
7. Zvíře je chováno
 - a) trvale v domácnosti – neopouští ji
 - b) v domácnosti – mimo pravidelné vycházky
 - c) válí se zvíře rádo v trávě?
 - d) venku, v chladném počasí v domácnosti
 - e) trvale venku
 - f) jiné (prosím, uveďte)
8. Je vyšetřované zvíře v kontaktu s jinými zvířaty? ANO / NE a s jakými:
9. Antibiotická terapie v posledním měsíci:

Dotazník byl vyplněn také každým z 80 nechovatelů, kteří déle než rok s DM nežijí. Od nich byly odebrány vzorky ze stejných míst jako od chovatelů. Suspektní léze nebyla zaznamenána u nikoho z této kontrolní skupiny.

LIDÉ BEZ SOUŽITÍ S DOMÁCÍMI MAZLÍČKY

1. Pohlaví: ŽENA/MUŽ
2. Věk:
3. Profesionální styk se zvířaty: ANO/NE
4. Doba sdílení domácnosti se zvířecími mazlíčky:
5. Doba bez sdílení domácnosti se zvířaty:
6. ATB terapie za posledních 12 měsíců:

3.2.3 Očkování a kultivace vzorků

Odebrané vzorky byly přeneseny v transportní půdě (Amiesova půda) do Ústavu klinické mikrobiologie ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. Pomocí výtěrové tyčinky byl nanesen materiál na pevné médium SGA. Vyžíhanou bakteriální kličkou byl proveden křížový roztěr. Naočkované půdy byly inkubovány v termostatu při teplotě 25 °C po dobu 7 dnů s 24 hodinovou kontrolou. Pokud za tuto dobu nebyl zaznamenán viditelný růst, byl vzorek považován za negativní.

3.2.4 Identifikace vzorků

Identifikace vzorků probíhala na základě růstu na půdě SGA. Po rozpoznání kolonií a rychlosti jejich růstu byly dále očkovány na příslušná média. Zygomycety na SLA4, dermatofyty na SGA3 a ostatní VM na PDA, CZA a MEA. Následná identifikace izolovaných hub proběhla pomocí mikroskopického nativního preparátu a kultivačně diagnostickými metodami v konfirmaci s přístrojem MALDI-TOF.

MALDI TOF

Hmotnostní spektrometrie je v současnosti nejmodernější fenotypovou metodou identifikace mikroorganismů založenou na srovnání hmotnostního spektra biomolekul vyšetřovaného izolátu s hmotnostním spektrem známého mikroorganismu. Hmotnostní spektroskopie MALDI byla původně vyvinuta pro kvalitativní analýzu peptidů a bílkovin (Melter et Malmgren 2014).

Přístroj MALDI TOF identifikuje mikroorganismy na podkladě hmotnostní spektroskopie. Molekuly vzorku jsou ionizovány laserem přímo, čímž se rozštěpí. Bez přídavku matrice by se však rozštěpily nežádoucím způsobem. Matrice je látka, jejímž prostřednictvím se ionizační energie laserového paprsku přenáší na molekuly vzorku a tím brání jejich rozpadu. Jako matrice se nejčastěji využívá derivátů kyseliny skořicové. Ionizace laserem přes matrici umožňuje měřit molekulové hmotnosti více látek v tomtéž vzorku. Ke stanovení vyšších molekulových hmotností se používá ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI, matrix assisted laser desorption/ionization) v kombinaci s detektorem doby průletu (TOF, time-of-flight). Detektor umožňuje změřit dobu průletu a z ní lze vypočítat rychlost částice (van Veen et al. 2010).

Část kolonie se nabere na dřevěné párátko a je přenesena na nerezovou nebo hliníkovou destičku, která může mít až 384 pozic (**Obr. 6**).

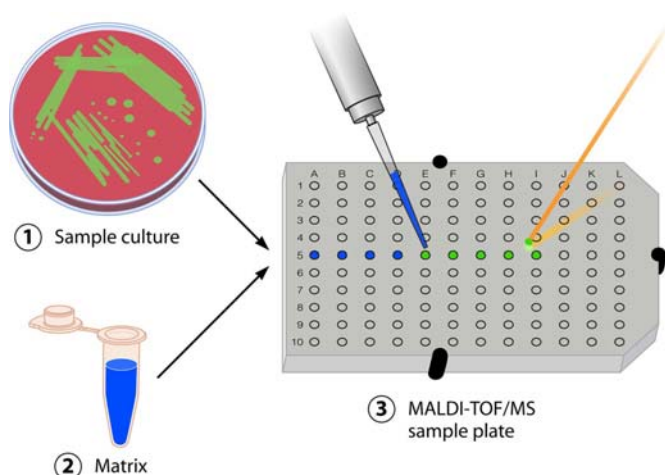


Schéma 1: MALDI TOF identifikace mikroorganismů (dle Clarc et al. 2013)

Ke vzorku se přidá matrice. Po zaschnutí je nosič vložen do hmotnostního spektrometru, kde je vystaven hlubokému vakuu, v němž je vzorek exponován laserovému paprsku po dobu nanosekund (**Obr. 7**).

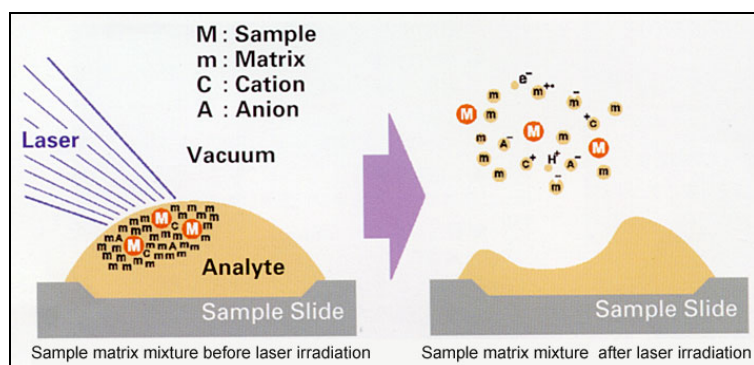


Schéma 2: Snímání vzorku laserovým paprskem (zdroj: www.shimadzu.com)

Laser způsobí sublimaci matrice, která přednostně paprsek absorbuje, přechází do plynné fáze a strhává s sebou molekuly analytu (Kačalová 2011).

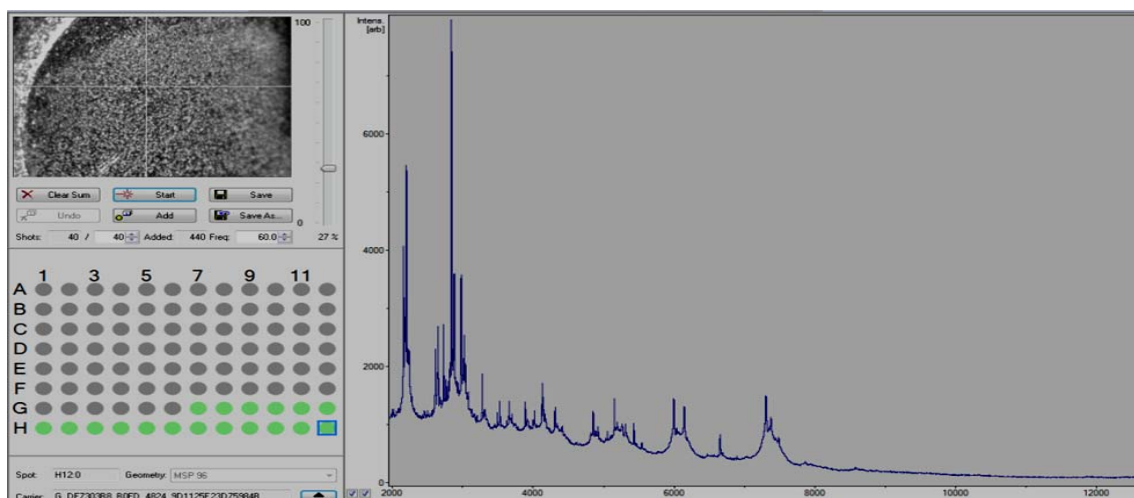
Vzniklé ionty jsou analyzovány po průletu trubicí a dopadu na detektor na základě doby dopadu, která je úměrná molekulové hmotnosti. Hmotnostní spektrum je druhově charakteristické pro identifikovaný mikroorganismus. Výsledky je možno odečíst do 20 minut (Eigner et al. 2009).

Při dodržení správného pracovního postupu a pokud je přístroj pravidelně čištěn, kalibrován a kontrolován, identifikuje s vysokou přesností běžné druhy mikrobů z lidských infekcí (Scharfen 2013).

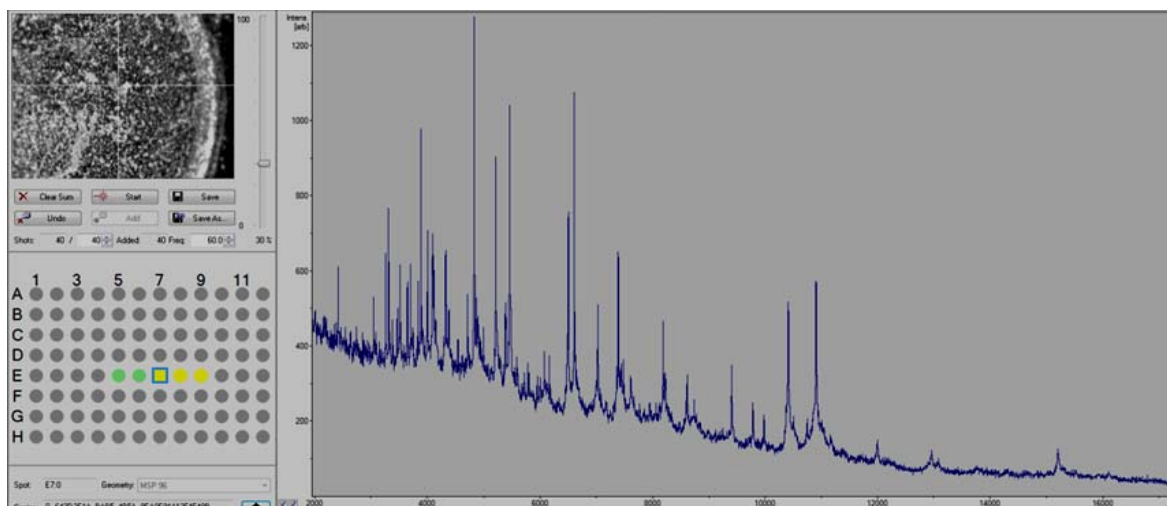
Hlavní výhodou metody MALDI-TOF je přesnost, rychlost a cena. Výhodou je také snížená pracnost a jasná dokumentace postupu identifikace. Zároveň však tato metoda přináší stoupající nároky na znalost diferenciální diagnostiky, nároky na znalost, pochopení a využití metod polyfázové taxonomie a identifikace, nároky na dokonalé provedení kultivačních metod s důrazem na preanalytickou fázi vyšetření (Scharfen 2013).

MALDI-TOF analýzy VM popisuje Santos et al. (2010) na velkém množství hubových skupin: *Penicillium*, aflatoxigenní aspergily, *Fusarium*, dermatofyta, *Trichoderma* i některé dřevokazné houby (např. *Serpula lacrymans*). Modifikovaná metoda, MALDI-TOF intact cell mass spectrometry (MALDI-TOF ICMS), byla navržena pro optimalizaci kontroly kvality houbových čínských léků (např. *Cordyceps*). Matrice absorbující UV záření funguje jako energetický mediátor přenášející absorbovanou světelnou energii ze zdroje ozáření na okolní molekuly vzorku, což vede k minimální fragmentaci. Tato metoda však není vhodná pro identifikaci kvasinek.

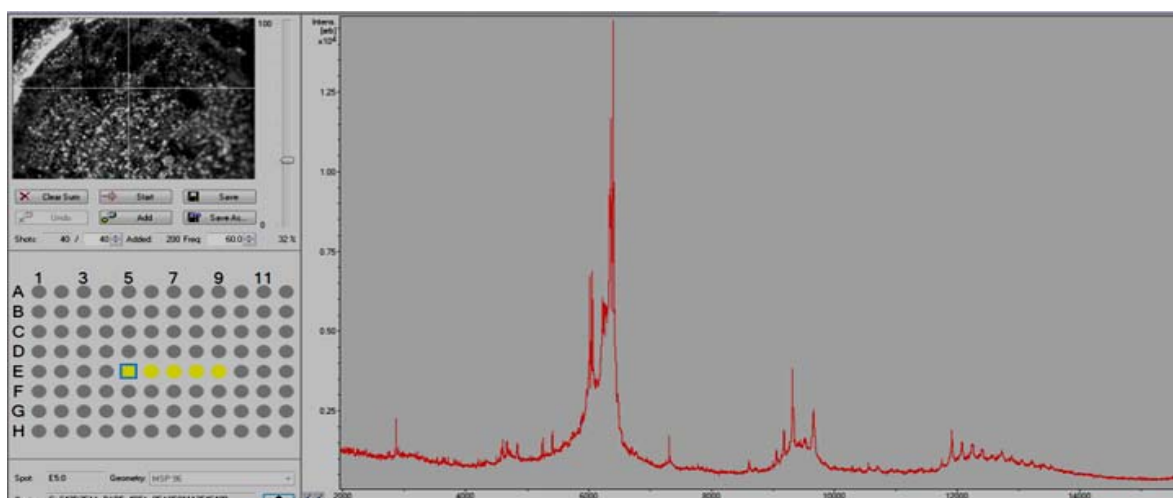
Příklady hmotnostních spekter charakteristických pro vybrané druhy VM jsou patrné na **obrázcích 10-14**.



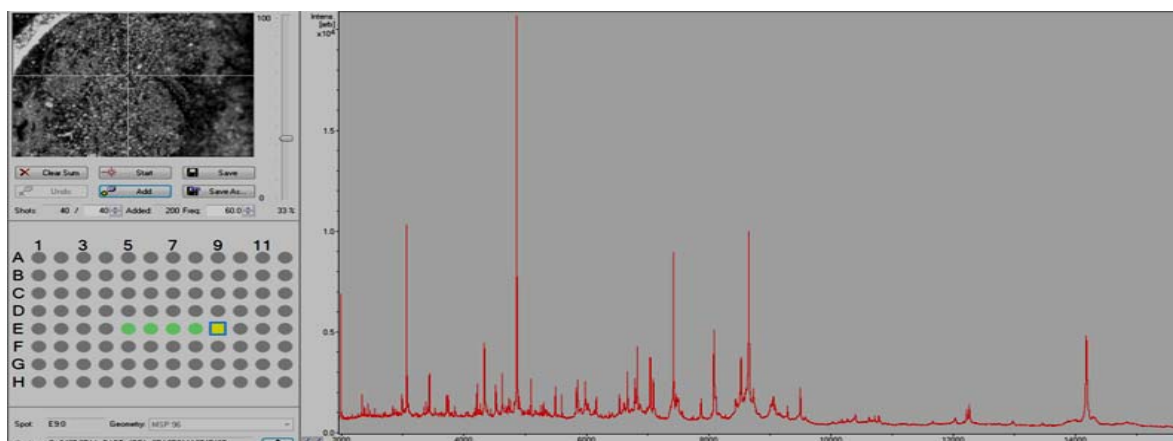
Obrázek 10: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Trichophyton rubrum*



Obrázek 11: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Mucor circinelloides*



Obrázek 12: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *A. niger*



Obrázek 13: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Aspergillus fumigatus*

3.2.5 Stanovení hypotéz

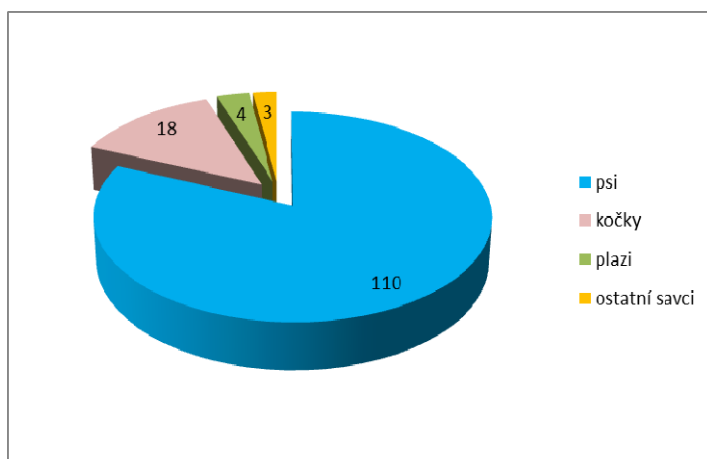
Hypotézy:

- 1.) Hodnota CI neovlivňuje množství druhů VM kolonizujících chovatele.
- 2.) H0: Hodnota CI neovlivňuje množství sdílených VM.
- 3.) H0: Počet druhů VM se neliší u chovatelů a nechovatelů.
- 4.) H0: Doba sdílení domácnosti se DM nemá vliv na množství druhů VM kolonizujících majitele.
- 5.) H0: Doba sdílení domácnosti s DM nemá vliv na množství sdílených druhů VM.
- 6.) H0: ATB terapie nemá vliv na počet druhů VM u lidí.

3.3 VÝSLEDKY

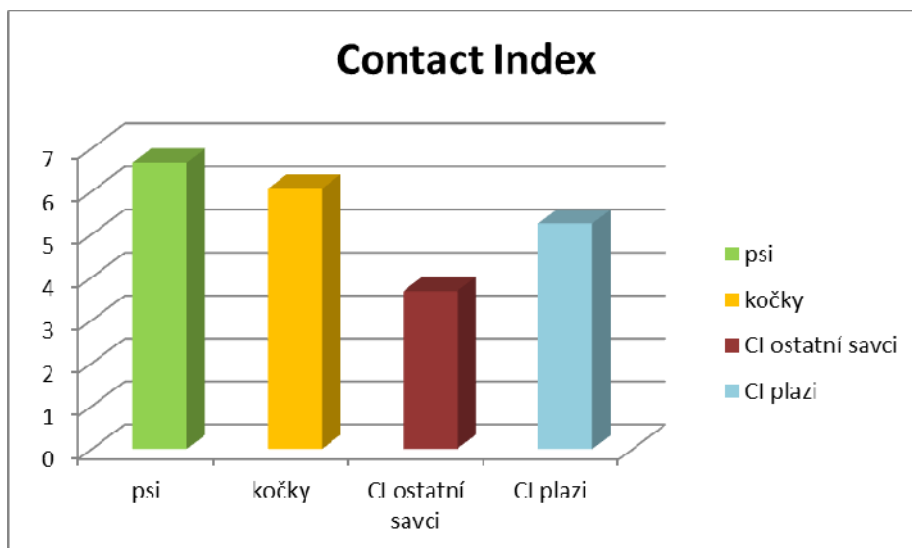
3.3.1 Data získaná z dotazníku

150 majitelů (71 mužů a 79 žen) poskytlo informovaný souhlas k zařazení do studie a vyplnili dotazník, z něhož plynou následující skutečnosti. Celkové množství 135 testovaných zvířat tvořilo 110 psů, 18 koček, 4 plazi (3 agamy vousaté a 1 had), 2 morčata a 1 zakrslý králík (viz **Graf 2**).



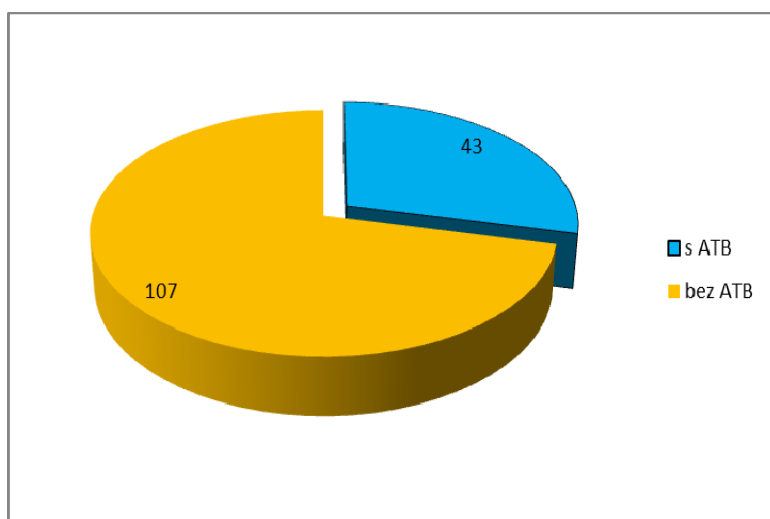
Graf 2: Soubor testovaných DM

U koček je průměrná hodnota CI 6 a u psů 7 (viz **Graf. 3**). Morčata a králík měli s lidmi nejméně úzký kontakt ze všech čtyř testovaných skupin.



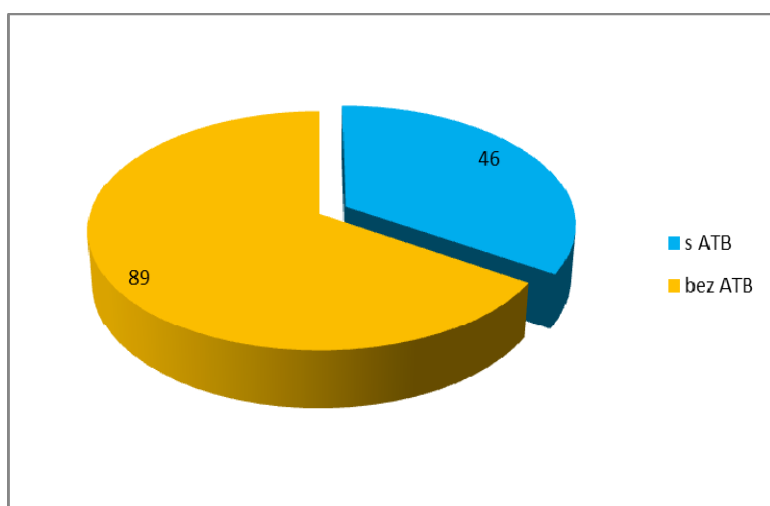
Graf 3: Porovnání CI k sledovaným DM

Z celkového množství chovatelů podstoupilo ATB terapii v posledním roce 43 (28,67 %) (viz **Graf 4**). Z nich však jeden chovatel byl podroben jen lokální léčbě.



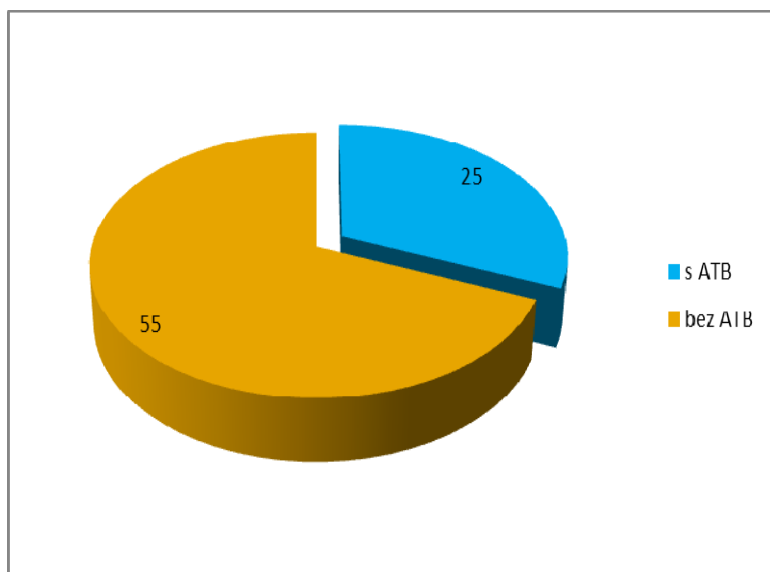
Graf 4: ATB terapie u chovatelů

Z celkového množství zvířecích mazlíčků podstoupilo ATB terapii 46 (34,8 %), z čehož 14 jen lokálně (viz **Graf 5**).



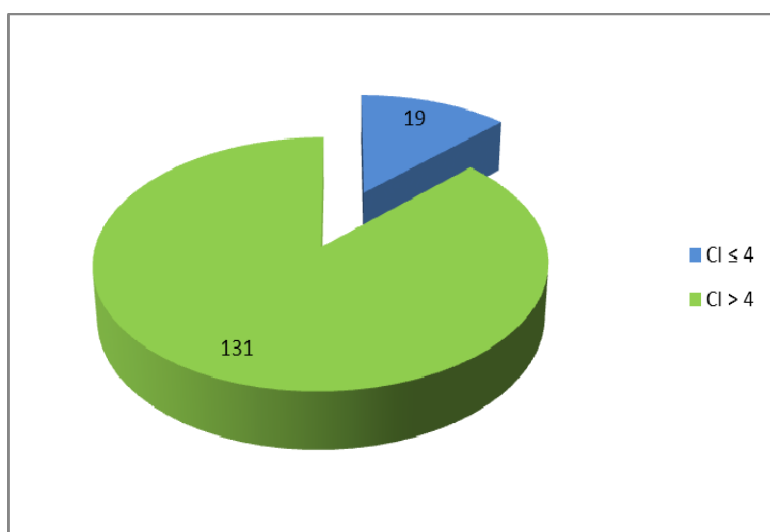
Graf 5: ATB terapie u DM

Kontrolní skupinu 80 lidí tvořili pouze účastníci, kteří déle než 1 rok nesdílejí domácnost s žádným zvířecím mazlíčkem a za poslední 1 rok neměli profesionální styk se zvířaty. 25 (31,25 %) z nich užívalo v posledním roce ATB (**Graf 6**).



Graf 6: ATB terapie u kontrolní skupiny

Contact index majitelů ve vztahu ke zvířecímu mazlíčkovi byl u 131 (87,3 %) > 4 (viz **Graf 7**) a 54 (43,2 %) majitelů chová v domácnosti více zvířat než jen to testované.



Graf 7: CI majitelů

3.3.2 Druhy VM izolované ze vzorků

Ze sledovaných domácností bylo kultivováno celkem 107 druhů a nižších taxonů. VM. Ze zvířecích vzorků bylo izolováno 85 druhů. Červeně je označeno 14 druhů identifikovaných pouze u sledovaných zvířat.

1.	<i>Absidia coerulea</i>	44.	<i>Mortierella zychae</i>
2.	<i>Acremonium berkeleyanum</i>	45.	<i>Mucor circinelloides f. circinelloides</i>
3.	<i>Acremonium murorum</i>	46.	<i>Mucor circinelloides f. gryseocyanus</i>
4.	<i>Acremonium ochraceum</i>	47.	<i>Mucor circinelloides f. janssenii</i>
5.	<i>Acremonium potroni</i>	48.	<i>Mucor circinelloides f. lusitanicus</i>
6.	<i>Actinomucor elegans</i>	49.	<i>Mucor dimorphosporus f. dimorphosporus</i>
7.	<i>Alternaria alternata</i>	50.	<i>Mucor dimorphosporus f. sphaerosporus</i>
8.	<i>Aspergillus candidus</i>	51.	<i>Mucor genevensis</i>
9.	<i>Aspergillus clavatus</i>	52.	<i>Mucor hiemalis f. corticolus</i>
10.	<i>Aspergillus flavus</i>	53.	<i>Mucor hiemalis f. hiemalis</i>
11.	<i>Aspergillus nidulans</i>	54.	<i>Muc. hiemalis f. silvaticus</i>
12.	<i>Aspergillus niger</i>	55.	<i>Mucor piriformis</i>
13.	<i>Aspergillus parasiticus</i>	56.	<i>Mucor plumbeus</i>
14.	<i>Aspergillus terreus</i>	57.	<i>Mycotypha microspora</i>
15.	<i>Aspergillus ustus</i>	58.	<i>Pacilomyces lilacinus</i>
16.	<i>Aspergillus versicolor</i>	59.	<i>Paecilomyces variotii</i>
17.	<i>Aureobasidium pullulans</i>	60.	<i>Phycomyces nitens</i>
18.	<i>Beauveria bassiana</i>	61.	<i>Penicillium canescens</i>
19.	<i>Beauveria brongniartii</i>	62.	<i>Penicillium citrinum</i>
20.	<i>Beauveria felina</i>	63.	<i>Penicillium commune</i>
21.	<i>Byssochlamys nivea</i>	64.	<i>Penicillium crustosum</i>
22.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	65.	<i>Penicillium digitatum</i>
23.	<i>Cladosporium herbarum</i>	66.	<i>Penicillium griseofulvum</i>
24.	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	67.	<i>Penicillium expansum</i>
25.	<i>Curvularia lunata</i>	68.	<i>Penicillium chrysogenum</i>
26.	<i>Doratomyces microsporus</i>	69.	<i>Penicillium lividum</i>
27.	<i>Fusarium acuminatum</i>	70.	<i>Penicillium solitum</i>
28.	<i>Fusarium avenaceum</i>	71.	<i>Penicillium thomii</i>

29.	<i>Fusarium culmorum</i>	72.	<i>Penicillium variabile</i>
30.	<i>Fusarium dimerum</i>	73.	<i>Penicillium vulpinum</i>
31.	<i>Fusarium equiseti</i>	74.	<i>Rhizomucor pusillus</i>
32.	<i>Fusarium incarnatum</i>	75.	<i>Rhizopus arrhizus</i>
33.	<i>Fusarium oxysporum</i>	76.	<i>Rhizopus microsporus</i>
34.	<i>Fusarium poae</i>	77.	<i>Rhizopus oryzae</i>
35.	<i>Fusarium solani</i>	78.	<i>Rhizopus stolonifer</i>
36.	<i>Fusarium verticilloides</i>	79.	<i>Scedosporium prolificans</i>
37.	<i>Gongronella butlerii</i>	80.	<i>Stachybotrys chartarum</i>
38.	<i>Chaetomium globosum</i>	81.	<i>Schizophyllum commune</i>
39.	<i>Chrysolinia sitophila</i>	82.	<i>Trichoderma viride</i>
40.	<i>Isaria farinosa</i>	83.	<i>Trichophyton mentagrophytes v. granulosum</i>
41.	<i>Isaria fumosorosea</i>	84.	<i>Trichophyton mentagrophytes v. mentagrophytes</i>
42.	<i>Mariannaea elegans</i>	85.	<i>Ulocladium atrum</i>
43.	<i>Microsporum canis</i>		

Z majitelů bylo izolováno 93 druhů VM. Červeně jsou označeny druhy (22) nalezené pouze z lidského klinického materiálu naší studie Zbylých 71 bylo nalezeno u obou skupin (lidé a DM).

1.	<i>Absidia coerulea</i>	48.	<i>Mucor circinelloides f. griseocyanus</i>
2.	<i>Acremonium berkeleyanum</i>	49.	<i>Mucor circinelloides f. lusitanicus</i>
3.	<i>Acremonium murorum</i>	50.	<i>Mucor circinelloides f. janssenii</i>
4.	<i>Acremonium ochraceum</i>	51.	<i>Mucor dimorphosporus f. dimorphosporus</i>
5.	<i>Acremonium potroni</i>	52.	<i>Mucor dimorphosporus f. sphaerosporus</i>
6.	<i>Actinomucor elegans</i>	53.	<i>Mucor genevensis</i>
7.	<i>Alternaria alternata</i>	54.	<i>Mucor hiemalis f. corticolus</i>
8.	<i>Alternaria tenuissima</i>	55.	<i>Mucor hiemalis f. hiemalis</i>
9.	<i>Aspergillus candidus</i>	56.	<i>Mucor hiemalis f. luteus</i>
10.	<i>Aspergillus carbonarius</i>	57.	<i>Mucor mucedo</i>
11.	<i>Aspergillus clavatus</i>	58.	<i>Mucor piriformis</i>
12.	<i>Aspergillus flavus</i>	59.	<i>Mucor plumbeus</i>
13.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	60.	<i>Myrothecium inundatum</i>
14.	<i>Aspergillus nidulans</i>	61.	<i>Myrothecium roridum</i>
15.	<i>Aspergillus niger</i>	62.	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
16.	<i>Aspergillus ochraceus</i>	63.	<i>Paecilomyces marquandii</i>

17.	<i>Aspergillus parasiticus</i>	64.	<i>Paecilomyces variotii</i>
18.	<i>Aspergillus restrictus</i>	65.	<i>Phycomyces nitens</i>
19.	<i>Aspergillus tamari</i>	66.	<i>Penicillium canescens</i>
20.	<i>Aspergillus terreus</i>	67.	<i>Penicillium citrinum</i>
21.	<i>Aspergillus ustus</i>	68.	<i>Penicillium commune</i>
22.	<i>Aspergillus versicolor</i>	69.	<i>Penicillium crustosum</i>
23.	<i>Aureobasidium pullulans</i>	70.	<i>Penicillium digitatum</i>
24.	<i>Beauveria bassiana</i>	71.	<i>Penicillium expansum</i>
25.	<i>Beauveria brongniartii</i>	72.	<i>Penicillium chrysogenum</i>
26.	<i>Cladobotryum dendroides</i>	73.	<i>Penicillium italicum</i>
27.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	74.	<i>Penicillium solitum</i>
28.	<i>Cladosporium herbarum</i>	75.	<i>Penicillium thomii</i>
29.	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	76.	<i>Penicillium variabile</i>
30.	<i>Cunninghamella elegans</i>	77.	<i>Penicillium viridicatum</i>
31.	<i>Curvularia lunata</i>	78.	<i>Penicillium vulpinum</i>
32.	<i>Epidermophyton floccosum</i>	79.	<i>Rhizomucor pusillus</i>
33.	<i>Fusarium acuminatum</i>	80.	<i>Rhizopus arrhizus</i>
34.	<i>Fusarium culmorum</i>	81.	<i>Rhizopus microsporus</i>
35.	<i>Fusarium dimerum</i>	82.	<i>Rhizopus oryzae</i>
36.	<i>Fusarium equiseti</i>	83.	<i>Rhizopus stolonifer</i>
37.	<i>Fusarium incarnatum</i>	84.	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
38.	<i>Fusarium poae</i>	85.	<i>Stachybotrys chartarum</i>
39.	<i>Fusarium solani</i>	86.	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
40.	<i>Fusarium verticilloides</i>	87.	<i>Tolypocladium inflatum</i>
41.	<i>Chaetomium globosum</i>	88.	<i>Trichoderma harzianum</i>
42.	<i>Chrysolinia sitophila</i>	89.	<i>Trichoderma viride</i>
43.	<i>Isaria farinosa</i>	90.	<i>Trichophyton mentagrophytes v. interdigitale</i>
44.	<i>Isaria fumosorosea</i>	91.	<i>Trichophyton mentagrophytes v. granulosum</i>
45.	<i>Lichtheimia corymbifera</i>	92.	<i>Trichophyton rubrum</i>
46.	<i>Microsporum canis</i>	93.	<i>Ulocladium atrum</i>
47.	<i>Mucor circinelloides f. circinelloides</i>		

Celkem 65 druhů bylo izolováno od nechovatelů. Izolované spektrum druhů bylo téměř totožné s druhovým spektrem chovatelů DM. Zeleně jsou označeny 2 druhy (*A. lentulus* a *A. pseudotamari*) nalezené pouze u kontrolní skupiny.

1.	<i>Acremonium berkeleyanum</i>	34.	<i>Mucor circinelloides f. circinelloides</i>
2.	<i>Acremonium potroni</i>	35.	<i>Mucor circinelloides f. griseocyanus</i>
3.	<i>Actinomucor elegans</i>	36.	<i>Mucor circinelloides f. lusitanicus</i>
4.	<i>Alternaria alternata</i>	37.	<i>Mucor dimorphosporus f. sphaerosporus</i>
5.	<i>Aspergillus candidus</i>	38.	<i>Mucor genevensis</i>
6.	<i>Aspergillus carbonarius</i>	39.	<i>Mucor hiemalis f. corticolus</i>
7.	<i>Aspergillus clavatus</i>	40.	<i>Mucor hiemalis f. hiemalis</i>
8.	<i>Aspergillus flavus</i>	41.	<i>Mucor hiemalis f. luteus</i>
9.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	42.	<i>Mucor piriformis</i>
10.	<i>Aspergillus lentulus</i>	43.	<i>Mucor plumbeus</i>
11.	<i>Aspergillus nidulans</i>	44.	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
12.	<i>Aspergillus niger</i>	45.	<i>Paecilomyces variotii</i>
13.	<i>Aspergillus parasiticus</i>	46.	<i>Phycomyces nitens</i>
14.	<i>Aspergillus pseudotamari</i>	47.	<i>Penicillium canescens</i>
15.	<i>Aspergillus restrictus</i>	48.	<i>Penicillium citrinum</i>
16.	<i>Aspergillus tamari</i>	49.	<i>Penicillium commune</i>
17.	<i>Aspergillus terreus</i>	50.	<i>Penicillium crustosum</i>
18.	<i>Aspergillus ustus</i>	51.	<i>Penicillium digitatum</i>
19.	<i>Aspergillus versicolor</i>	52.	<i>Penicillium expansum</i>
20.	<i>Aureobasidium pullulans</i>	53.	<i>Penicillium chrysogenum</i>
21.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	54.	<i>Penicillium italicum</i>
22.	<i>Cladosporium herbarum</i>	55.	<i>Penicillium solitum</i>
23.	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	56.	<i>Penicillium thomii</i>
24.	<i>Curvularia lunata</i>	57.	<i>Penicillium variabile</i>
25.	<i>Fusarium acuminatum</i>	58.	<i>Rhizomucor pusillus</i>
26.	<i>Fusarium culmorum</i>	59.	<i>Rhizopus stolonifer</i>
27.	<i>Fusarium dimerum</i>	60.	<i>Stachybotrys chartarum</i>
28.	<i>Fusarium poae</i>	61.	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
29.	<i>Fusarium solani</i>	62.	<i>Trichoderma viride</i>
30.	<i>Fusarium verticilloides</i>	63.	<i>Trichoderma harzianum</i>
31.	<i>Chrysolinia sitophila</i>	64.	<i>Trichophyton mentagrophytes v. interdigitale</i>
32.	<i>Chaetomium globosum</i>	65.	<i>Trichophyton rubrum</i>
33.	<i>Isaria farinosa</i>		

54 druhů bylo společných se skupinou chovatelů a 9 druhů bylo nalezeno jak u chovatelů, tak u DM. Dva uvedené druhy aspergilů nebyly nalezeny v žádném jiném sledovaném souboru, pouze u nechovatelů (viz **Schéma 3**).

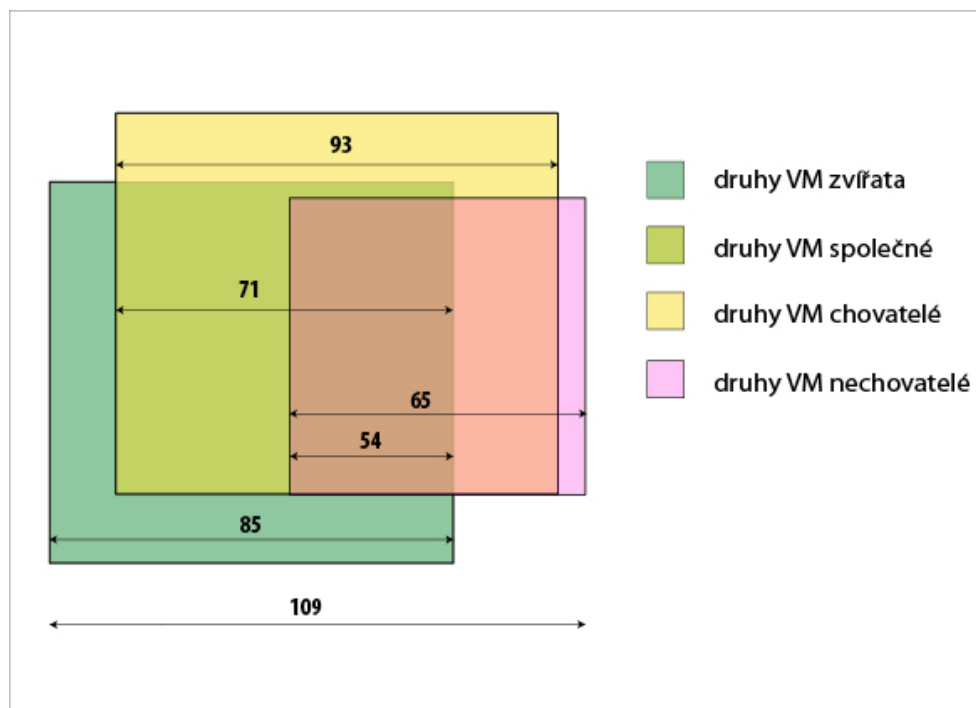
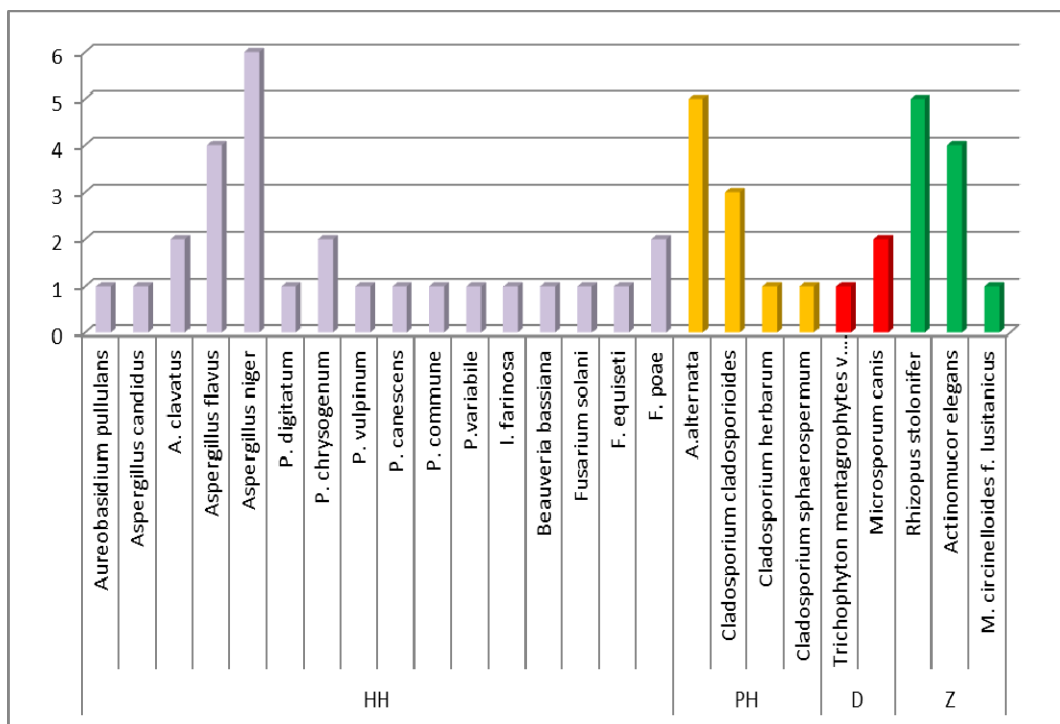


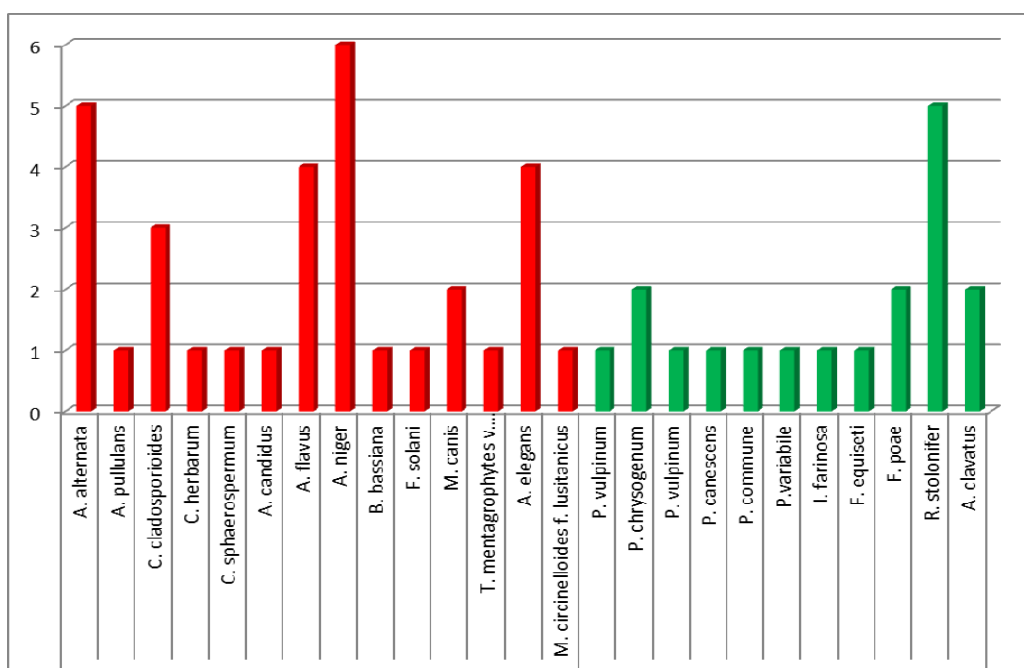
Schéma 3: Překrytí druhových spekter VM zvířat, jejich chovatelů a kontrolní skupiny

25 druhů bylo sdíleno zvířecím mazlíčkem i majitelem (viz **Graf 8**). Nejčastěji sdíleným druhem byl *Aspergillus niger*.



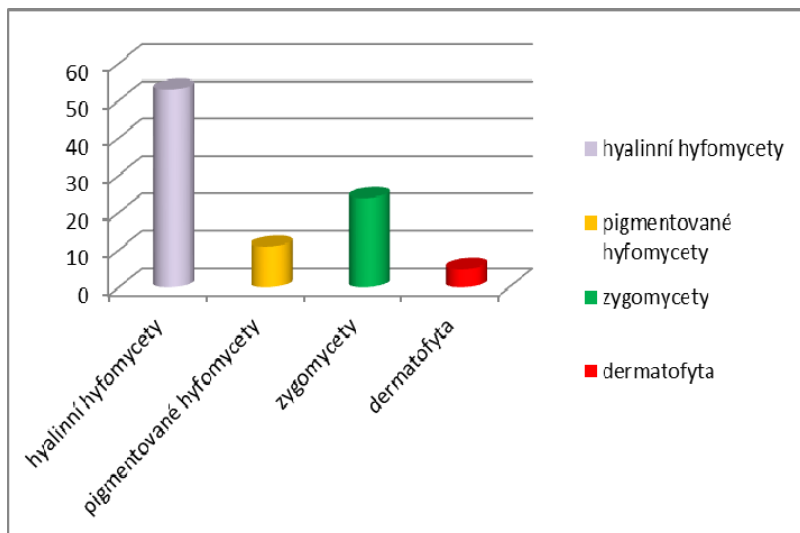
Graf 8: Sdílené spektrum druhů VM v domácnostech (HH – hyalinní hyfomycety, PH – pigmentované hyfomycety, D – dermatofyta, Z – zygomycety)

14 ze sdílených druhů se uplatňují jako patogeny člověka. Dermatofyta mají afinitu ke kožním adnexům a epidermis savců. Jejich patogenita je tudíž primární. Ostatní nalezené druhy s prokázanou patogenitou se jako infekční agens uplatňují jen při imunodeficitu hostitele (viz **Graf 9**).



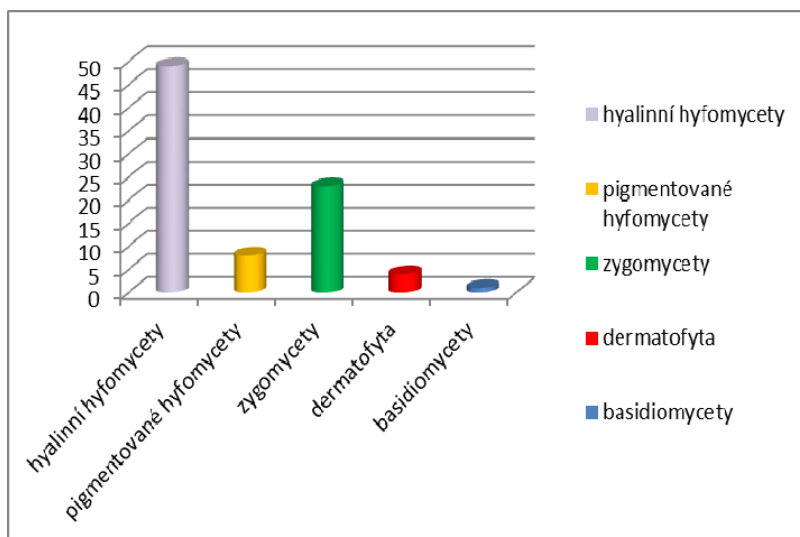
Graf 9: Sdílené druhy VM s prokázanou/neprokázanou zoopatogenitou

Ze vzorků majitelů bylo izolováno 93 druhů hub, z nichž 51 (54,8 %) patří do klastru hyfomycet s hyalinním přehrádkovaným myceliem, 26 (28 %) do zygomycet, 11 (11,8 %) do pigmentovaných hyfomycet a 5 (5,4 %) do keratinofilních dermatofyt (viz **Graf 10.**).



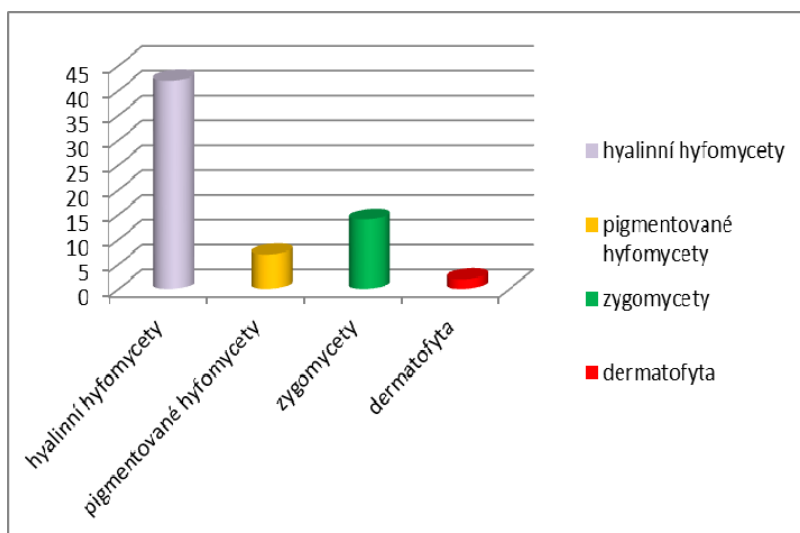
Graf 10: Zastoupení morfoskupin izolovaných VM u chovatelů

U domácích mazlíčků bylo druhové spektrum podobné s téměř shodným podílem morfoskupin. Rovněž největší zastoupení měly hyalinní hyfomycety 47 druhů (55,3 %), zygomycety byly zastopeny ve 24 druzích (28,2 %), pigmentované hyfomycety v 9 druzích (10,6 %) a dermatofyta ve 4 druzích (4,7 %). Výjimku tvořil 1 izolát (1,2 %) bazidiomycety, která rostla v podobě sterilního mycelia a později byla vyhodnocena přístrojem MALDI TOF jako běžná dřevokazná houba, *Schizophyllum commune* (klanolístka obecná), o níž je známo, že se může uplatňovat jako zoopatogen při imunosupresi (**Graf. 11.**).



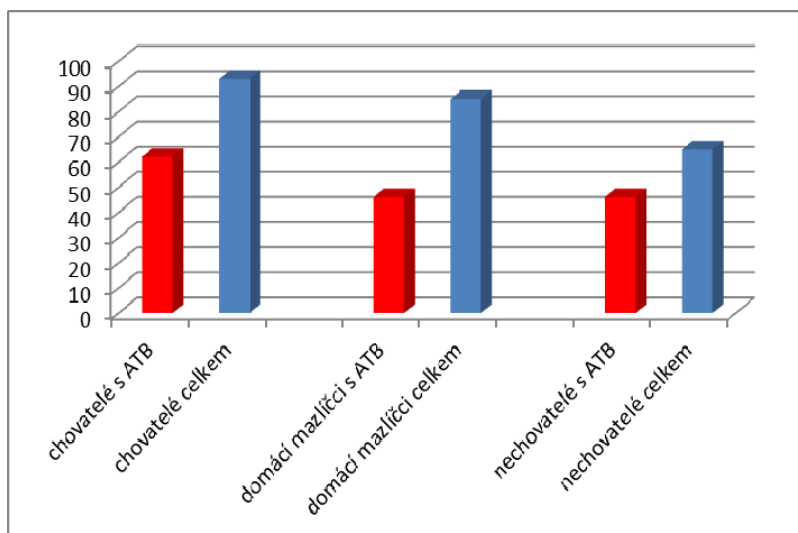
Graf 11: Zastoupení morfoskupin izolovaných VM u DM

U kontrolní skupiny lidí, kteří více než rok nesdílí domácnost s žádným zvířetem, bylo izolováno 65 druhů VM s největším zastoupením hyalinních hyfomycet (**Graf 12.**).



Graf 12: Zastoupení morfoskupin izolovaných VM u nechovatelů

Počet druhů VM u všech tří souborů vyšetřovaných účastníků, podstoupivše za poslední rok ATB terapii (majitelé 28,67 %, domácí mazlíčci 34,8 % a kontrolní skupina 31,25 %), je vždy více než polovina celku všech izolovaných druhů (viz **Graf 13**). Biodiverzita VM domácích mazlíčků byla ATB terapií pozitivně ovlivněna nejméně.



Graf 13: Počet druhů VM u sledovaných souborů v porovnání s uživateli ATB

Druhy VM izolované od chovatelů

Od majitelů domácích mazlíčků bylo izolováno 93 druhů VM, z toho 36 druhů z nosní sliznice, 43 druhů ze zvukovodu, 39 z podpaží, 73 z meziprstí nohou a 5 druhů ze suspektních lézí (nejčastěji kožní). Suspektní léze však byla nalezena jen u 9 majitelů (viz **Tabulky 6a–e, Graf 14**). Častější výskyt je při 10 % a více (běžově), 5–10 % méně častý (světle fialově, 2–5 % vzácnější (žlutě) a u méně než 2 % případů (bledě modře) je výskyt druhu zcela ojedinělý a lze ho považovat za přechodnou flóru. To však pouze v případě, nejedná-li se o primárního původce infekce (např. dermatofyt z kožní léze).

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	21	14,00
2	<i>Aspergillus flavus</i>	10	6,67
3	<i>Alternaria alternata</i>	8	5,33
4	<i>Asp. candidus</i>	4	2,67
5	<i>Asp. niger</i>	4	2,67
6	<i>Asp. parasiticus</i>	3	2,00
7	<i>Aureobasidium pullulans</i>	3	2,00
8	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	3	2,00
9	<i>Fusarium poae</i>	3	2,00
10	<i>F. acuminatum</i>	2	1,33
11	<i>F. solani</i>	2	1,33
12	<i>Asp. fumigatus</i>	2	1,33
13	<i>Asp. nidulans</i>	2	1,33
14	<i>Asp. versicolor</i>	2	1,33
15	<i>Cl. cladosporioides</i>	2	1,33

16	<i>Cl. herbarum</i>	2	1,33
17	<i>Pen. thomii</i>	2	1,33
18	<i>Mucor plumbeus</i>	2	1,33
19	<i>Rhizopus stolonifer</i>	2	1,33
20	<i>Rh. oryzae</i>	1	0,67
21	<i>Acremonium potroni</i>	1	0,67
22	<i>Alt. tenuissima</i>	1	0,67
23	<i>Asp. clavatus</i>	1	0,67
24	<i>Asp. tamari</i>	1	0,67
25	<i>Beauveria bassiana</i>	1	0,67
26	<i>F. equiseti</i>	1	0,67
27	<i>Pen. canescens</i>	1	0,67
28	<i>Pen. citrinum</i>	1	0,67
29	<i>Pen. digitatum</i>	1	0,67
30	<i>Pen. expansum</i>	1	0,67
31	<i>Pen. italicum</i>	1	0,67
32	<i>Pen. variabile</i>	1	0,67
33	<i>Stachybotrys chartarum</i>	1	0,67
34	<i>Trichoderma harzianum</i>	1	0,67
35	<i>Actinomucor elegans</i>	1	0,67
36	<i>Mucor hiemalis f. corticolus</i>	1	0,67

Tabulka 6a: Druhové spektrum VM nosní sliznice chovatelů

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Aspergillus niger</i>	35	23,33
2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	23	15,33
3	<i>Alternaria alternata</i>	8	5,33
4	<i>Rhizopus stolonifer</i>	7	4,67
5	<i>Asp. candidus</i>	6	4,00
6	<i>Asp. flavus</i>	5	3,33
7	<i>Actinomucor elegans</i>	4	2,67
8	<i>Pen. thomii</i>	4	2,67
9	<i>Asp. clavatus</i>	3	2,00
10	<i>Asp. nidulans</i>	3	2,00
11	<i>Pen. variabile</i>	3	2,00
12	<i>Curvularia lunata</i>	2	1,33
13	<i>Fusarium dimerum</i>	2	1,33
14	<i>F. equiseti</i>	2	1,33
15	<i>Isaria farinosa</i>	2	1,33
16	<i>Mucor plumbeus</i>	2	1,33
17	<i>Rh. arrhizus</i>	2	1,33
18	<i>Acremonium ochraceum</i>	1	0,67

19	<i>Ac. berkeleyanum</i>	1	0,67
20	<i>Alt. tenuispora</i>	1	0,67
21	<i>Asp. carbonarius</i>	1	0,67
22	<i>Asp. parasiticus</i>	1	0,67
23	<i>Asp. tamari</i>	1	0,67
24	<i>Asp. terreus</i>	1	0,67
25	<i>Asp. versicolor</i>	1	0,67
26	<i>Aureobasidium pullulans</i>	1	0,67
27	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	0,67
28	<i>Cl. herbarum</i>	1	0,67
29	<i>Cl. sphaerospermum</i>	1	0,67
30	<i>F. acuminatum</i>	1	0,67
31	<i>F. culmorum</i>	1	0,67
32	<i>F. poae</i>	1	0,67
33	<i>F. solani</i>	1	0,67
34	<i>F. verticilloides</i>	1	0,67
35	<i>Pen. crustosum</i>	1	0,67
36	<i>Pen. expansum</i>	1	0,67
37	<i>Pen. italicum</i>	1	0,67
38	<i>Pen. viridicatum</i>	1	0,67
39	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	1	0,67
40	<i>Tolypocladium inflatum</i>	1	0,67
41	<i>Myrothecium roridum</i>	1	0,67
42	<i>Muc. circinelloides f. griseocyanus</i>	1	0,67
43	<i>Rhizopus oryzae</i>	1	0,67

Tabulka 6b: Druhové spektrum VM zvukovodu chovatelů

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	22	14,67
2	<i>Aspergillus flavus</i>	12	8,00
3	<i>Asp. clavatus</i>	11	7,33
4	<i>Asp. candidus</i>	10	6,67
5	<i>Alternaria alternata</i>	9	6,00
6	<i>Fusarium poae</i>	6	4,00
7	<i>Asp. parasiticus</i>	5	3,33
8	<i>F. solani</i>	5	3,33
9	<i>F. equiseti</i>	4	2,67
10	<i>Asp. nidulans</i>	4	2,67
11	<i>Rhizopus stolonifer</i>	4	2,67
12	<i>Asp. fumigatus</i>	3	2,00
13	<i>Cladosporium herbarum</i>	3	2,00
14	<i>Cl. sphaerospermum</i>	3	2,00
15	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	3	2,00

16	<i>Aureobasidium pullulans</i>	2	1,33
17	<i>Asp. ustus</i>	2	1,33
18	<i>Cl. cladosporioides</i>	2	1,33
19	<i>Pen. digitatum</i>	2	1,33
20	<i>Actinomucor elegans</i>	2	1,33
21	<i>Mucor hiemalis f. luteus</i>	2	1,33
22	<i>Acremonium berkeleyanum</i>	1	0,67
23	<i>Acr. murorum</i>	1	0,67
24	<i>Acr. potroni</i>	1	0,67
25	<i>Asp. niger</i>	1	0,67
26	<i>Asp. ochraceus</i>	1	0,67
27	<i>F. dimerum</i>	1	0,67
28	<i>F. incarnatum</i>	1	0,67
29	<i>Chaetomium globosum</i>	1	0,67
30	<i>Isaria farinosa</i>	1	0,67
31	<i>Paecilomyces variotii</i>	1	0,67
32	<i>Pen. commune</i>	1	0,67
33	<i>Pen. thomii</i>	1	0,67
34	<i>Ulocladium atrum</i>	1	0,67
35	<i>Myrothecium inundatum</i>	1	0,67
36	<i>Muc. dimorphosporus f. dimorphosporus</i>	1	0,67
37	<i>Muc. dimorphosporus f. sphaerosporus</i>	1	0,67
38	<i>Muc. hiemalis f. silvaticus</i>	1	0,67
39	<i>Rhizomucor pusillus</i>	1	0,67

Tabulka 6c: Druhové spektrum VM podpaží chovatelů

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Rhizopus stolonifer</i>	39	26,00
2	<i>Alternaria alternata</i>	29	19,33
3	<i>Actinomucor elegans</i>	26	17,33
4	<i>Mucor plumbeus</i>	22	14,67
5	<i>Penicillium chrysogenum</i>	11	7,33
6	<i>Aspergillus terreus</i>	8	5,33
7	<i>Asp. flavus</i>	7	4,67
8	<i>Asp. clavatus</i>	6	4,00
9	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	5	3,33
10	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	5	3,33
11	<i>Asp. niger</i>	4	2,67
12	<i>Cl. herbarum</i>	4	2,67
13	<i>Fusarium acuminatum</i>	4	2,67
14	<i>F. poae</i>	4	2,67
15	<i>F. solani</i>	4	2,67

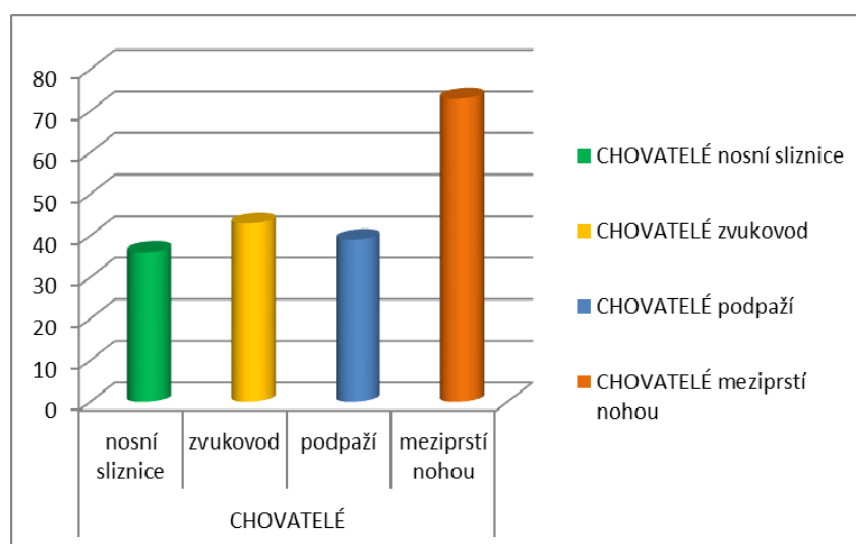
16	<i>Pen. thomii</i>	4	2,67
17	<i>Muc. hiemalis f. hiemalis</i>	4	2,67
18	<i>Asp. candidus</i>	3	2,00
19	<i>Beauveria brongniartii</i>	3	2,00
20	<i>Cl. sphaerospermum</i>	3	2,00
21	<i>Paecilomyces variotii</i>	3	2,00
22	<i>Pen. canescens</i>	3	2,00
23	<i>Pen. variabile</i>	3	2,00
24	<i>Pen. vulpinum</i>	3	2,00
25	<i>Muc. circinelloides f. circinelloides</i>	3	2,00
26	<i>Muc. circinelloides f. griseocyanus</i>	3	2,00
27	<i>Muc. circinelloides f. lusitanicus</i>	3	2,00
28	<i>Rh. arrhizus</i>	3	2,00
29	<i>Rh. microsporus</i>	3	2,00
30	<i>Rh. oryzae</i>	3	2,00
31	<i>Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale</i>	3	2,00
32	<i>Tr. rubrum</i>	3	2,00
33	<i>Acremonium ochraceum</i>	2	0,74
34	<i>Asp. nidulans</i>	2	0,74
35	<i>Curvularia lunata</i>	2	0,74
36	<i>F. equiseti</i>	2	0,74
37	<i>Pen. commune</i>	2	0,74
38	<i>Pen. digitatum</i>	2	0,74
39	<i>Pen. expansum</i>	2	0,74
40	<i>Muc. circinelloides f. janssenii</i>	2	0,74
41	<i>Muc. dimorphosporus f. sphaerosporus</i>	2	0,74
42	<i>Muc. hiemalis f. corticolus</i>	2	0,74
43	<i>Muc. hiemalis f. silvaticus</i>	2	0,74
44	<i>Phycomyces nitens</i>	2	0,74
45	<i>Ac. potroni</i>	1	0,67
46	<i>Asp. fumigatus</i>	1	0,67
47	<i>Asp. restrictus</i>	1	0,67
48	<i>Asp. ustus</i>	1	0,67
49	<i>Asp. versicolor</i>	1	0,67
50	<i>B. bassiana</i>	1	0,67
51	<i>Cladobotryum dendroides</i>	1	0,67
52	<i>F. culmorum</i>	1	0,67
53	<i>Isaria farinosa</i>	1	0,67
54	<i>Is. fumosorosea</i>	1	0,67
55	<i>Chaetomium globosum</i>	1	0,67
56	<i>Chrysolinia sitophila</i>	1	0,67
57	<i>Paec. lilacinus</i>	1	0,67
58	<i>Paec. marquandii</i>	1	0,67

59	<i>Pen. crustosum</i>	1	0,67
60	<i>Pen. italicum</i>	1	0,67
61	<i>Microsporum canis</i>	1	0,67
62	<i>Stachybotrys chartarum</i>	1	0,67
63	<i>Tr. mentagrophytes</i> var. <i>granulosum</i>	1	0,67
64	<i>Trichoderma harzianum</i>	1	0,67
65	<i>Trich. viride</i>	1	0,67
66	<i>Absidia glauca</i>	1	0,67
67	<i>Cunninghamella elegans</i>	1	0,67
68	<i>Lichtheimia corymbifera</i>	1	0,67
69	<i>Muc. genevensis</i>	1	0,67
70	<i>Muc. hiemalis</i> f. <i>luteus</i>	1	0,67
71	<i>Muc. mucedo</i>	1	0,67
72	<i>Muc. piriformis</i>	1	0,67
73	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	1	0,67

Tabulka 6d: Druhové spektrum VM mezivrstí nohou chovatelů

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Epidermophyton floccosum</i>	2	28,57
2	<i>Microsporum canis</i>	1	14,29
3	<i>Penicillium canescens</i>	1	14,29
4	<i>Pen. expansum</i>	1	14,29
5	<i>Pen. variabile</i>	1	14,29

Tabulka 6e: Druhové spektrum VM suspektních ložisek chovatelů



Graf 14: Druhové zastoupení odběrových míst chovatelů

Druhy VM izolovaných od DM

U 135 domácích zvířat, která s člověkem sdílí domácnost, byly provedeny výtěry z nosní sliznice, zvukovodu a u některých také stěr ze suspektního zánětlivého ložiska (viz **Tabulky 7a–c, Graf 15**).

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Actinomucor elegans</i>	12	8,89
2	<i>Rhizopus stolonifer</i>	12	8,89
3	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	10	7,41
4	<i>Alternaria alternata</i>	10	7,41
5	<i>Mucor plumbeus</i>	10	7,41
6	<i>Fusarium solani</i>	8	5,93
7	<i>Penicillium variabile</i>	8	5,93
8	<i>Aspergillus clavatus</i>	7	5,19
9	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	7	5,19
10	<i>Cl. herbarum</i>	7	5,19
11	<i>Mucor circinelloides f. circinelloides</i>	7	5,19
12	<i>Muc. hiemalis f. hiemalis</i>	6	4,44
13	<i>Muc. hiemalis f. corticolus</i>	6	4,44
14	<i>Muc. circinelloides f. lusitanicus</i>	6	4,44
15	<i>F. acuminatum</i>	6	4,44
16	<i>Asp. terreus</i>	6	4,44
17	<i>Pen. expansum</i>	5	3,70
18	<i>F. poae</i>	5	3,70
19	<i>Muc. dimorphosporus f. sphaerosporus</i>	5	3,70
20	<i>Asp. candidus</i>	4	2,96
21	<i>Asp. flavus</i>	4	2,96
22	<i>Asp. niger</i>	4	2,96
23	<i>Aureobasidium pullulans</i>	3	2,22
24	<i>Cl. sphaerospermum</i>	3	2,22
25	<i>Pen. canescens</i>	3	2,22
26	<i>Rh. oryzae</i>	3	2,22
27	<i>Muc. circinelloides f. gryseocyanus</i>	3	2,22
28	<i>Muc. circinelloides f. janssenii</i>	3	2,22
29	<i>Acremonium murorum</i>	2	1,48
30	<i>Beauveria bassiana</i>	2	1,48
31	<i>Asp. nidulans</i>	2	1,48
32	<i>Doratomyces microsporus</i>	2	1,48
33	<i>F. verticilloides</i>	2	1,48
34	<i>Pen. citrinum</i>	2	1,48
35	<i>Pen. crustosum</i>	2	1,48
36	<i>Pen. griseofulvum</i>	2	1,48

37	<i>Pen. lividum</i>	2	1,48
38	<i>Trichoderma viride</i>	2	1,48
39	<i>Mycotypha microspora</i>	1	0,74
40	<i>Byssoschlamys nivea</i>	1	0,74
41	<i>Asp. versicolor</i>	1	0,74
42	<i>Botrytis cinerea</i>	1	0,74
43	<i>F. avenaceum</i>	1	0,74
44	<i>F. dimerum</i>	1	0,74
45	<i>F. incarnatum</i>	1	0,74
46	<i>F. oxysporum</i>	1	0,74
47	<i>Isaria farinosa</i>	1	0,74
48	<i>Beauveria felina</i>	1	0,74
49	<i>Beauveria brongniartii</i>	1	0,74
50	<i>Pen. commune</i>	1	0,74
51	<i>Pen digitatum</i>	1	0,74
52	<i>Pen. chrysogenum</i>	1	0,74
53	<i>Pen. solitum</i>	1	0,74
54	<i>Pen. thomii</i>	1	0,74
55	<i>Pen. vulpinum</i>	1	0,74
56	<i>Mariannaea elegans</i>	1	0,74
57	<i>Microsporum canis</i>	1	0,74
58	<i>Stachybotrys chartarum</i>	1	0,74
59	<i>Absidia coerulea</i>	1	0,74
60	<i>Gongronella butlerii</i>	1	0,74
61	<i>Mortierella zychnae</i>	1	0,74
62	<i>Mucor genevensis</i>	1	0,74
63	<i>Phycomyces nitens</i>	1	0,74
64	<i>Rhizomucor pusillus</i>	1	0,74
65	<i>Chrysolinia sitophila</i>	1	0,74

Tabulka 7a: Druhové spektrum VM nosní sliznice DM

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Aspergillus niger</i>	40	29,63
2	<i>Alternaria alternata</i>	20	14,81
3	<i>Rhizopus stolonifer</i>	13	9,63
4	<i>Asp. flavus</i>	13	9,63
5	<i>Mucor plumbeus</i>	11	8,15
6	<i>Asp. clavatus</i>	10	7,41
7	<i>Actinomucor elegans</i>	8	5,93
8	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	7	5,19
9	<i>Penicillium variabile</i>	6	4,44
10	<i>Pen. chrysogenum</i>	5	3,70

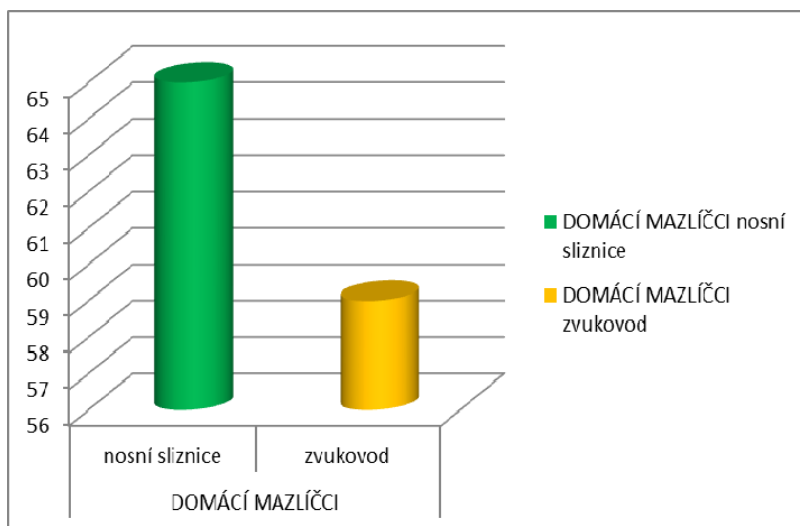
11	<i>Pen. thomii</i>	5	3,70
12	<i>Cl. herbarum</i>	5	3,70
13	<i>Cl. sphaerospermum</i>	5	3,70
14	<i>Asp. candidus</i>	5	3,70
15	<i>Asp. nidulans</i>	5	3,70
16	<i>Asp. terreus</i>	5	3,70
17	<i>Fusarium solani</i>	4	2,96
18	<i>Isaria farinosa</i>	4	2,96
19	<i>Mucor hiemalis f. hiemalis</i>	4	2,96
20	<i>Muc. dimorphosporus f. sphaerosporus</i>	3	2,22
21	<i>Rhizopus arrhizus</i>	3	2,22
22	<i>Rh. oryzae</i>	3	2,22
23	<i>Beauveria bassiana</i>	3	2,22
24	<i>F. poae</i>	3	2,22
25	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	3	2,22
26	<i>Pen. citrinum</i>	3	2,22
27	<i>Ulocladium atrum</i>	3	2,22
28	<i>Acremonium ochraceum</i>	2	1,48
29	<i>Asp. ustus</i>	2	1,48
30	<i>Asp. versicolor</i>	2	1,48
31	<i>Microsporum canis</i>	2	1,48
32	<i>Pen. canescens</i>	2	1,48
33	<i>Pen. crustosum</i>	2	1,48
34	<i>Pen. expansum</i>	2	1,48
35	<i>Pen. griseofulvum</i>	2	1,48
36	<i>Phycomyces nitens</i>	2	1,48
37	<i>Muc. circinelloides f. griseocyanus</i>	2	1,48
38	<i>Muc. circinelloides f. jansenii</i>	2	1,48
39	<i>Muc. hiemalis f. corticolus</i>	2	1,48
40	<i>Acr. berkeleyanum</i>	1	0,74
41	<i>Acr. murorum</i>	1	0,74
42	<i>Asp. parasiticus</i>	1	0,74
43	<i>Asp. versicolor</i>	1	0,74
44	<i>Curvularia lunata</i>	1	0,74
45	<i>Isaria fumosorosea</i>	1	0,74
46	<i>Chaetomium globosum</i>	1	0,74
47	<i>Chrysolinia sitophila</i>	1	0,74
48	<i>Pen. citrinum</i>	1	0,74
49	<i>Pen. commune</i>	1	0,74
50	<i>Pen. digitatum</i>	1	0,74
51	<i>Pen. lividum</i>	1	0,74
52	<i>Pen. solitum</i>	1	0,74
53	<i>Aureobasidium pullulans</i>	1	0,74

54	<i>Scedosporium prolificans</i>	1	0,74
55	<i>Trichoderma viride</i>	1	0,74
56	<i>Paecilomyces variotii</i>	1	0,74
57	<i>Muc. dimorphosporus f. dimorphosporus</i>	1	0,74
58	<i>Muc. circinelloides f. lusitanicus</i>	1	0,74
59	<i>Schizophyllum commune</i>	1	0,74

Tabulka 7b: Druhové spektrum VM zvukovodu DM

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Microsporum canis</i>	4	10,53
2	<i>Cladosporium herbarum</i>	3	7,89
3	<i>Actinomucor elegans</i>	3	7,89
4	<i>Alternaria alternata</i>	2	5,26
5	<i>Penicillium commune</i>	2	5,26
6	<i>Pen. thomii</i>	2	5,26
7	<i>Cl. cladosporioides</i>	2	5,26
8	<i>Cl. sphaerospermum</i>	1	2,63
9	<i>Aspergillus clavatus</i>	1	2,63
10	<i>Asp. flavus</i>	1	2,63
11	<i>Acremonium potroni</i>	1	2,63
12	<i>Aureobasidium pullulans</i>	1	2,63
13	<i>Fusarium avenaceum</i>	1	2,63
14	<i>Fusarium equiseti</i>	1	2,63
15	<i>Pen. canescens</i>	1	2,63
16	<i>Pen. vulpinum</i>	1	2,63
17	<i>Trichophyton mentagrophytes v. mentagrophytes</i>	1	2,63
18	<i>Tr. mentagrophytes v. granulosum</i>	1	2,63
19	<i>Trichoderma viride</i>	1	2,63
20	<i>Absidia coerulea</i>	1	2,63
21	<i>Mucor dimorphosporus f. dimorphosporus</i>	1	2,63
22	<i>Muc. circinelloides f. circinelloides</i>	1	2,63
23	<i>Muc. circinelloides f. lusitanicus</i>	1	2,63
24	<i>Muc. hiemalis f. corticolus</i>	1	2,63
25	<i>Muc. hiemalis f. silvaticus</i>	1	2,63
26	<i>Muc. plumbeus</i>	1	2,63
27	<i>Rhizopus microsporus</i>	1	2,63
28	<i>Rh. oryzae</i>	1	2,63
29	<i>Rh. stolonifer</i>	1	2,63

Tabulka 7c: Druhové spektrum VM suspektních ložisek DM



Graf 15: Druhové zastoupení odběrových míst DM

Druhy VM izolovaných od kontrolní skupiny

U 80 nechovatelů domácích mazlíčků, kteří nemají soukromý ani profesionální kontakt se zvířaty, bylo identifikováno 65 druhů VM, z nichž jen dva druhy (*Aspergillus lentulus* a *Asp. pseudotamari*) byly izolovány pouze z této kontrolní skupiny účastníků. Druhová spektra VM izolovaná z odběrových míst vyjadřují **Tabulky 8a–d** a **Graf 16**.

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	14	17,50
2	<i>Aspergillus flavus</i>	10	12,50
3	<i>Asp. candidus</i>	5	6,25
4	<i>Cladosporium herbarum</i>	4	5,00
5	<i>Asp. tamari</i>	3	3,75
6	<i>Asp. nidulans</i>	3	3,75
7	<i>Asp. fumigatus</i>	3	3,75
8	<i>Alternaria alternata</i>	3	3,75
9	<i>Trichoderma viride</i>	3	3,75
10	<i>Cl. sphaerospermum</i>	3	3,75
11	<i>Cl. cladosporioides</i>	2	2,50
12	<i>Asp. parasiticus</i>	2	2,50
13	<i>Asp. clavatus</i>	2	2,50
14	<i>Aureobasidium pullulans</i>	2	2,50
15	<i>Mucor plumbeus</i>	2	2,50
16	<i>Penicillium variabile</i>	2	2,50
17	<i>Pen. citrinum</i>	1	1,25
18	<i>Pen. commune</i>	1	1,25
19	<i>Paecilomyces variotii</i>	1	1,25
20	<i>Paec. lilacinus</i>	1	1,25

21	<i>Fusarium solani</i>	1	1,25
22	<i>F. culmorum</i>	1	1,25
23	<i>P. commune</i>	1	1,25
24	<i>Chrysolinia sitophia</i>	1	1,25
25	<i>Stachybotrys chartarum</i>	1	1,25
26	<i>Curvularia lunata</i>	1	1,25

Tabulka 8a: Druhové spektrum VM nosní sliznice nechovatelů

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Aspergillus niger</i>	17	21,25
2	<i>Asp. nidulans</i>	6	7,50
3	<i>Penicillium chrysogenum</i>	6	7,50
4	<i>Alternaria alternata</i>	5	6,25
5	<i>Asp. clavatus</i>	4	5,00
6	<i>Asp. versicolor</i>	3	3,75
7	<i>Rhizopus stolonifer</i>	3	3,75
8	<i>Stachybotrys chartarum</i>	3	3,75
9	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	2	2,50
10	<i>Curvularia lunata</i>	2	2,50
11	<i>Pen. canescens</i>	2	2,50
12	<i>Pen. citrinum</i>	1	1,25
13	<i>Pen. italicum</i>	1	1,25
14	<i>Pen. solitum</i>	1	1,25
15	<i>Pen. variabile</i>	1	1,25
16	<i>Paecilomyces variotii</i>	1	1,25
17	<i>Fusarium acuminatum</i>	1	1,25
18	<i>F. dimerum</i>	1	1,25
19	<i>F. solani</i>	1	1,25
20	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	1,25
21	<i>Isaria farinosa</i>	1	1,25
22	<i>Trichoderma harzianum</i>	1	1,25
23	<i>Asp. candidus</i>	1	1,25
24	<i>Asp. carbonarius</i>	1	1,25
25	<i>Asp. flavus</i>	1	1,25
26	<i>Asp. tamari</i>	1	1,25
27	<i>Asp. terreus</i>	1	1,25
28	<i>Muc. circinelloides f. circinelloides</i>	1	2,50
29	<i>Mucor plumbeus</i>	1	2,50

Tabulka 8b: Druhové spektrum VM zvukovodu nechovatelů

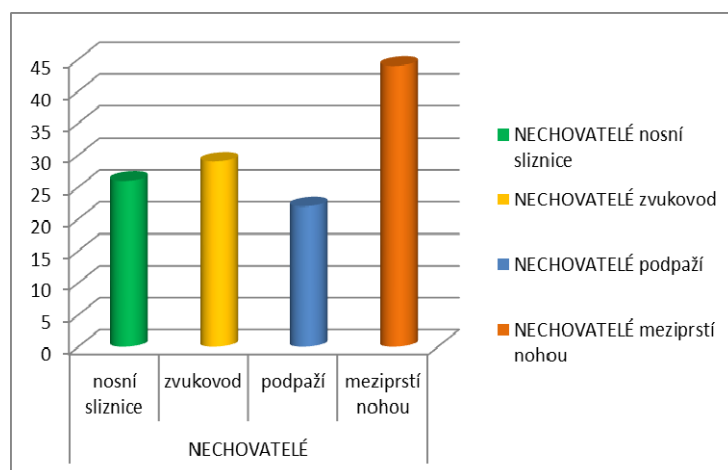
pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	11	13,75
2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	7	8,75
3	<i>Alternaria alternata</i>	5	6,25
4	<i>Aspergillus clavatus</i>	5	6,25
5	<i>Asp. flavus</i>	4	5,00
6	<i>Cladosporium herbarum</i>	4	5,00
7	<i>Cl. cladosporioides</i>	3	3,75
8	<i>Stachybotrys chartarum</i>	3	3,75
9	<i>Fusarium poae</i>	3	3,75
10	<i>Asp. candidus</i>	3	3,75
11	<i>Asp. niger</i>	3	3,75
12	<i>Asp. terreus</i>	3	3,75
13	<i>F. acuminatum</i>	2	2,50
14	<i>Paecilomyces variotii</i>	2	2,50
15	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	2	2,50
16	<i>F. solani</i>	1	1,25
17	<i>Trichoderma viride</i>	1	1,25
18	<i>Pen. commune</i>	1	1,25
19	<i>Asp. fumigatus</i>	1	1,25
20	<i>Asp. parasiticus</i>	1	1,25
21	<i>Asp. tamari</i>	1	1,25
22	<i>Asp. versicolor</i>	1	1,25

Tabulka 8c: Druhové spektrum VM v podpaží nechovatelů

pořadí	druh izolované vláknité houby	počet případů	četnost %
1	<i>Alternaria alternata</i>	23	28,75
2	<i>Rhizopus stolonifer</i>	19	23,75
3	<i>Actinomucor elegans</i>	8	10,00
4	<i>Mucor plumbeus</i>	6	7,50
5	<i>Aspergillus niger</i>	5	6,25
6	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	5	6,25
7	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	4	5,00
8	<i>Penicillium digitatum</i>	3	3,75
9	<i>Pen. chrysogenum</i>	3	3,75
10	<i>P. variabile</i>	3	3,75
11	<i>Fusarium solani</i>	3	3,75
12	<i>Muc. dimorphosporus f. sphaerosporus</i>	3	3,75
13	<i>Muc. hiemalis f. corticolus</i>	3	3,75
14	<i>Muc. circinelloides f. lusitanicus</i>	2	2,50

15	<i>Muc. dimorphosporus f. sphaerosporus</i>	2	2,50
16	<i>Asp. fumigatus</i>	2	2,50
17	<i>Aureobasidium pullulans</i>	2	2,50
18	<i>Cladosporium herbarum</i>	2	2,50
19	<i>Fusarium verticilloides</i>	2	2,50
20	<i>Asp. candidus</i>	2	2,50
21	<i>Asp. clavatus</i>	1	1,25
22	<i>Asp. lentulus</i>	1	1,25
23	<i>Asp. restrictus</i>	1	1,25
24	<i>Asp. pseudotamari</i>	1	1,25
25	<i>Asp. ustus</i>	1	1,25
26	<i>Asp. terreus</i>	1	1,25
27	<i>Fus. dimerum</i>	1	1,25
28	<i>Cl. sphaerospermum</i>	1	1,25
29	<i>Acremonium berkeleyanum</i>	1	1,25
30	<i>Acr. potroni</i>	1	1,25
31	<i>Curvularia lunata</i>	1	1,25
32	<i>Chrysolinia sitophila</i>	1	1,25
33	<i>Isaria farinosa</i>	1	1,25
34	<i>Muc. hiemalis f. hiemalis</i>	1	1,25
35	<i>Muc. hiemalis f. luteus</i>	1	1,25
36	<i>Muc. circinelloides f. griseocyanus</i>	1	1,25
37	<i>Muc. mucedo</i>	1	1,25
38	<i>Muc. piriformis</i>	1	1,25
39	<i>Rhizomucor pusillus</i>	1	1,25
40	<i>Trichophyton rubrum</i>	1	1,25
41	<i>Tr. mentagrophytes var. interdigitale</i>	1	1,25
42	<i>Pen. canescens</i>	1	1,25
43	<i>Paec. variotii</i>	1	1,25
44	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	1	1,25

Tabulka 8d: Druhové spektrum VM v mezprstí nohou nechovatelů



Graf 16: Druhové zastoupení odběrových míst kontrolní skupiny

3.3.3 Vyhodnocení hypotéz

1.) **H₀: Hodnota Contact indexu (CI) neovlivňuje množství druhů VM kolonizujících chovatele.**

150 chovatelů bylo rozděleno do kontingenční tabulky:

	Počet druhů VM										
CI	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	Celkový součet
2					1	2	1	1			5
3				2	1		1	1			5
4	2				2	3	1	1			9
5			1	3	4	2			1		11
6			2	7	9	10	3	2	1	1	35
7		2	1	6	7	11	2		1		30
8	1	3	9	14	8	8	9	3			55
Celkový součet	3	5	13	32	32	36	17	8	3	1	150

Pro testování je uvedená tabulka příliš řídká, a proto bylo provedeno sdružení sousedních kategorií do tohoto tvaru:

	Počet druhů VM					
CI	0 - 2	3	4	5	6 +	suma
2 - 5	3	5	8	7	7	30
6	2	7	9	10	7	35
7	3	6	7	11	3	30
8	13	14	8	8	12	55
suma	21	32	32	36	29	150

V těchto počtech již bylo možno aplikovat test chí-kvadrát nezávislosti, a to s výslednou **p = 0,244** (funkce CHITEST; MS Excel). Test neprokázal statisticky významnou závislost mezi CI a počtem druhů VM.

2.) H0: Hodnota CI neovlivňuje množství sdílených druhů VM.

150 chovatelů bylo rozděleno do kontingenční tabulky:

	Počet sdílených druhů VM				
CI	0	1	2	4	Celkem
2	3	1		1	5
3	2	3			5
4	7	1	1		9
5	7	4			11
6	27	5	3		35
7	20	8	1	1	30
8	36	16	3		55
Celkem	102	38	8	2	150

Pro testování je uvedená tabulka příliš řídká, a proto bylo provedeno sdružení sousedních kategorií do tohoto tvaru:

	Počet sdílených druhů VM		
CI	0	1+	suma
2–5	19	11	30
6	27	8	35
7	20	10	30
8	36	19	55
suma	102	48	150

V těchto počtech již bylo možno aplikovat test chí-kvadrát nezávislosti s výslednou **p = 0,608** (funkce CHITEST; MS Excel). Test neprokázal statisticky významnou závislost mezi CI a počtem sdílených druhů VM.

3.) H0: Počet druhů VM se neliší u chovatelů a nechovatelů.

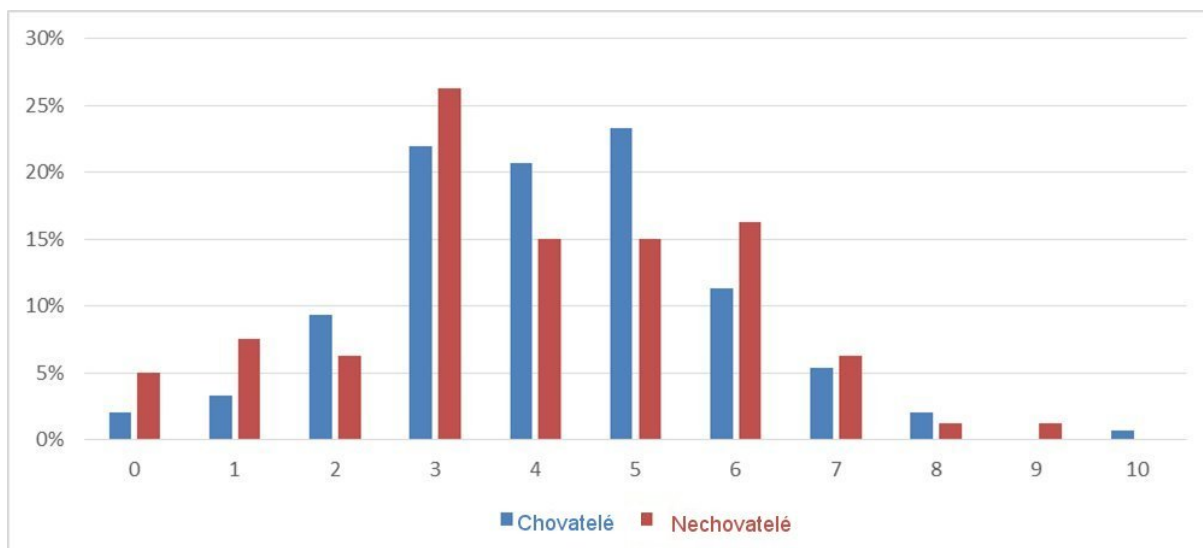
Popisné charakteristiky obou skupin:

	chovatelé	nechovatelé
počet	150	80
min	0	0
median	4	4
max	10	9
prům	4,15	3,96
smodch	1,71	1,96

Dvouvýběrový test byl proveden v neparametrické podobě (Mann-Whitney; MW), $p = 0,534$ (SW STATISTICA). Mezi oběma skupinami nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

Tabulka porovnání četností

četnosti druhů hub u člověka	chovatelé	nechovatelé	chovatelé	nechovatelé
0	3	4	2 %	5 %
1	5	6	3 %	8 %
2	14	5	9 %	6 %
3	33	21	22 %	26 %
4	31	12	21 %	15 %
5	35	12	23 %	15 %
6	17	13	11 %	16 %
7	8	5	5 %	6 %
8	3	1	2 %	1 %
9	0	1	0 %	1 %
10	1	0	1 %	0 %
celkem	150	80	100 %	100 %

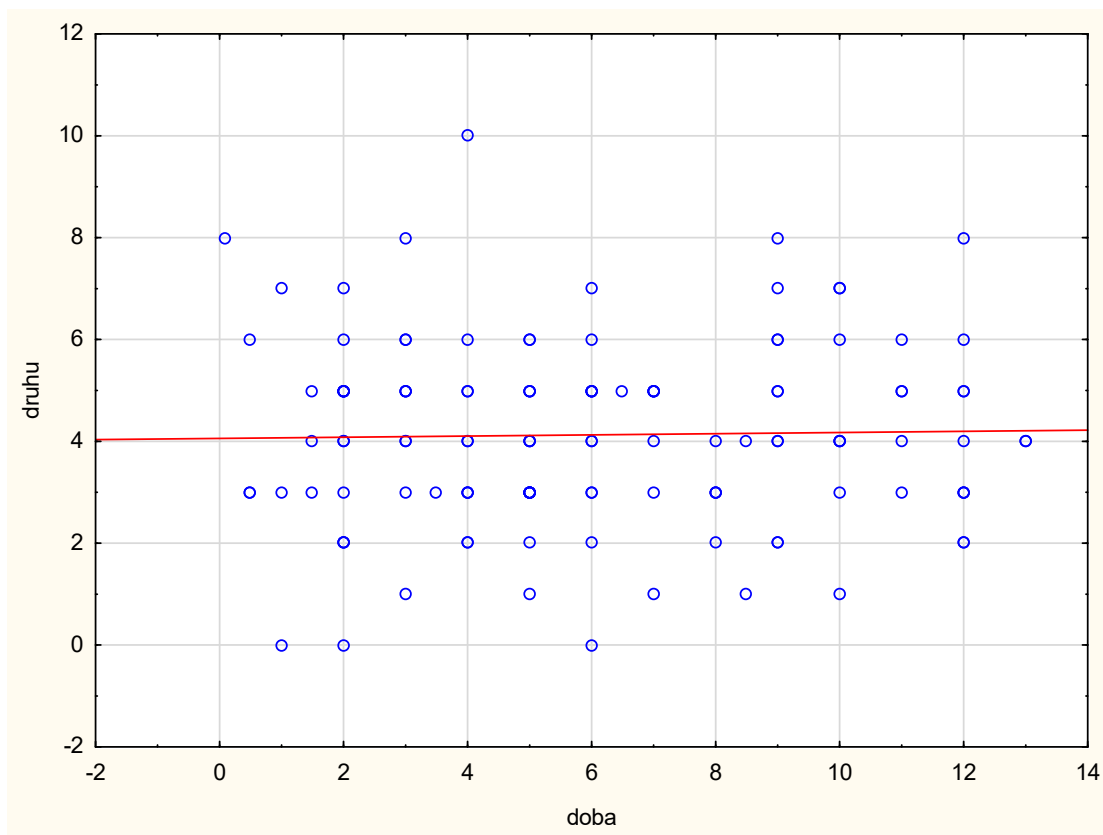


Pro test nezávislosti typu chí-kvadrát bylo nutno ve výše uvedené kontingenční tabulce sloučit sousední kategorie (za účelem dosažení potřebně velkých počtů) – viz upravená tabulka:

sloučeno	chovatelé	nechovatelé	celkem
0 - 2	22	15	37
3	33	21	54
4	31	12	43
5	35	12	47
6	17	13	30
7 - 10	12	7	19
	150	80	230

Aplikace testu χ^2 končí výslednou $p = 0,465$. Nebyl tedy prokázán významný rozdíl mezi počtem druhů chovatelů a nechovatelů DM.

4.) H0: Doba sdílení domácnosti s DM nemá vliv na množství druhů VM kolonizujících majitele.



Pomocí lineárního regresního modelu **nebyla** prokázána závislost počtu druhů na době. Příslušná $p = 0,805$.

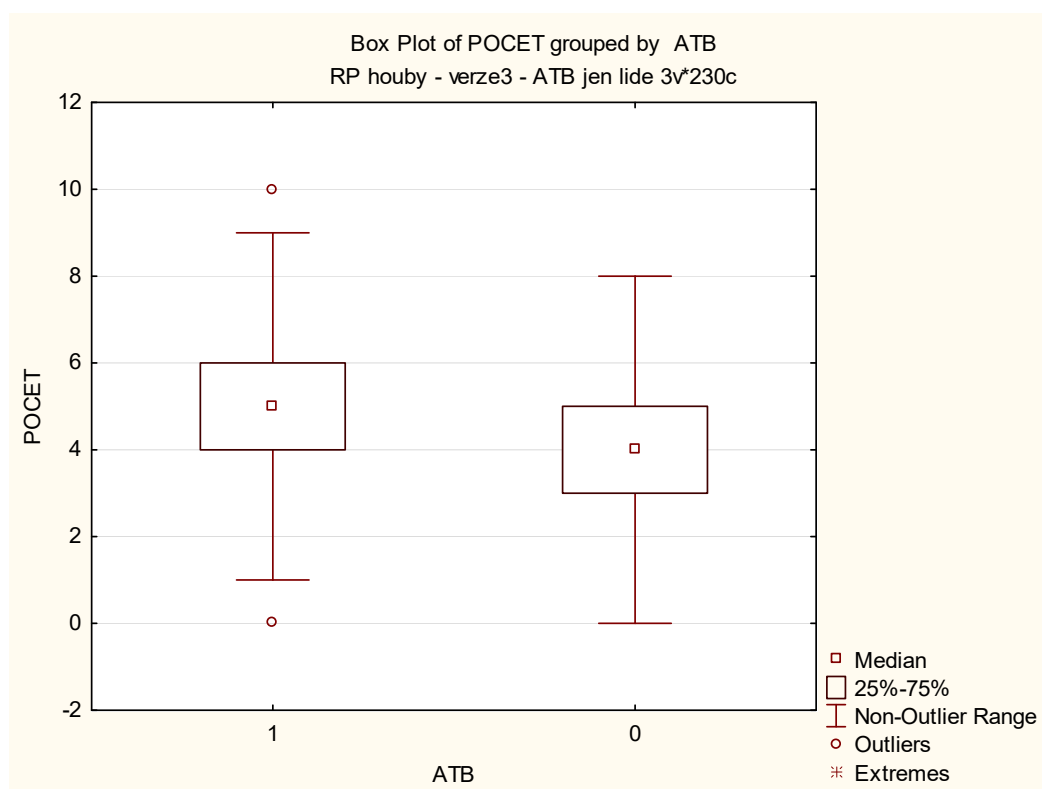
5.) H0: Doba sdílení domácnosti s DM nemá vliv na množství sdílených druhů VM.

Závislá veličina nabývala jen tří hodnot 0 (94x), 1 (26x) nebo 2 (pouze 5x). Data proto byla sloučena do dvou kategorií: **1.** počet sdílených druhů = 0 oproti **2.** počtu sdílených druhů alespoň 1 (tedy 1 nebo 2 dohromady). Pro tyto dvě kategorie byl proveden MW test s výslednou $p = 0,810$. Mezi oběma kategoriemi nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v době sdílení.

6.) H0: ATB terapie nemá vliv na počet druhů VM u lidí.

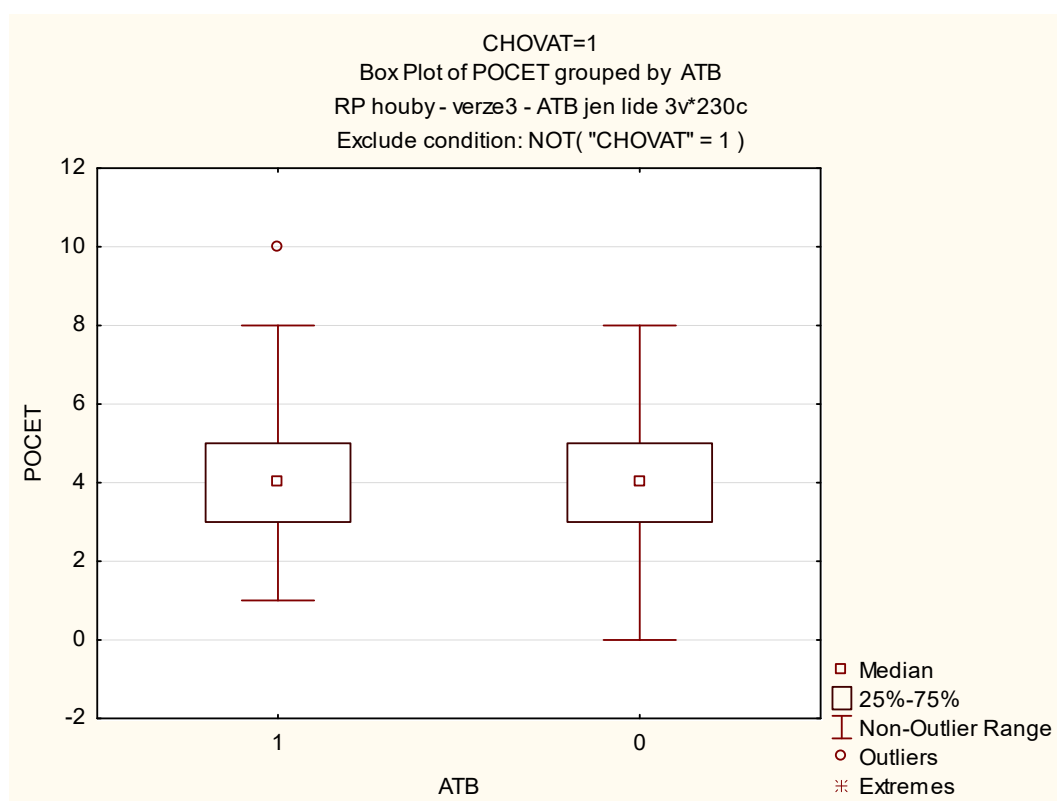
Tedy dohromady nechovatelé a chovatelé – deskripce a graf:

chovatelé + nechovatelé	s ATB (ATB=1)	bez ATB (ATB=0)	všichni
počet	68	162	230
min	0	0	0
medián	5,000	4,000	4,000
max	10	8	10
průměr	4,721	3,821	4,087
směrod.odchylka	1,868	1,719	1,808



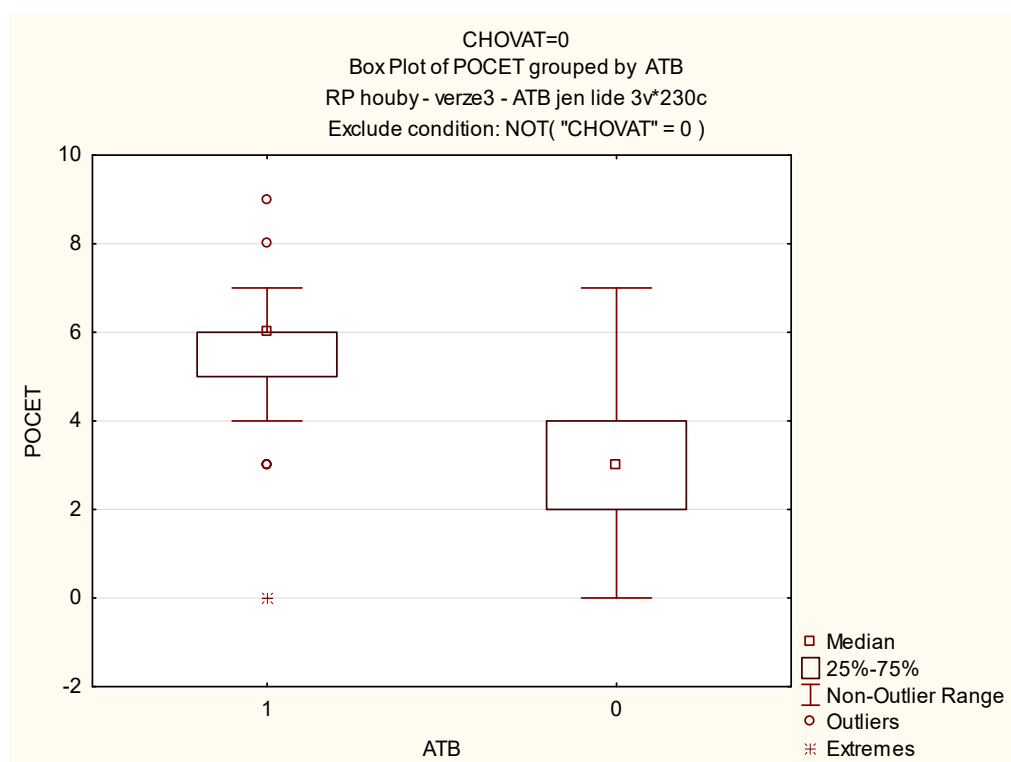
Rozdíl v počtech hub mezi skupinami s ATB a bez ATB byl porovnán MW testem a vyšel statisticky významný ($p = 0,00170$). To bylo způsobeno chováním jen jedné z obou skupin, a proto byla provedena stejná analýza zvlášť pro chovatele a zvlášť pro nechovatele.

CHOVATELÉ	s ATB	bez ATB	všichni
počet	43	107	150
min	1	0	0
medián	4,000	4,000	4,000
max	10	8	10
průměr	4,302	4,093	4,153
směrod.odchylka	1,780	1,691	1,713



Rozdíl v počtech druhů VM u chovatelů mezi skupinami s ATB a bez ATB byl porovnán MW testem a nevyšel statisticky významný ($p = 0,854905$).

NECHOVATELÉ	s ATB (ATB=1)	bez ATB (ATB=0)	všichni
počet	25	55	80
min	0	0	0
medián	6,000	3,000	4,000
max	9	7	9
průměr	5,440	3,291	3,963
směrod.odchylka	1,828	1,663	1,977



Rozdíl v počtech hub u nechovatelů mezi skupinami s ATB a bez ATB byl porovnán MW testem a vyšel statisticky významný ($p = 5 \cdot 10^{-6}$).

Analýza výsledků zjistila, že se účastníci liší ve výsledcích plynoucích z dotazníků podle demografických proměnných. Průměrné hodnoty OPRS vyšly významně vyšší u žen než u mužů. Chovatelé vlastníci DM déle než tři roky mají rovněž vyšší střední hodnoty OPRS dotazníku ve srovnání s těmi, kteří sdílejí domácnost se zvířetem méně než tři roky. Také chovatelé žijící na vesnici mají mírně vyšší střední hodnoty než chovatelé žijící ve městě. Majitelé psů jsou dle výsledků dotazníku OPRS více vázáni na DM než majitelé koček. Analýzy také ukázaly, že majitelé psů prokazovali bližší vztah ke DM s rodokmenem. U koček vlastnictví rodokmenu nehraje významnou roli (Smolkovic et al. 2012).

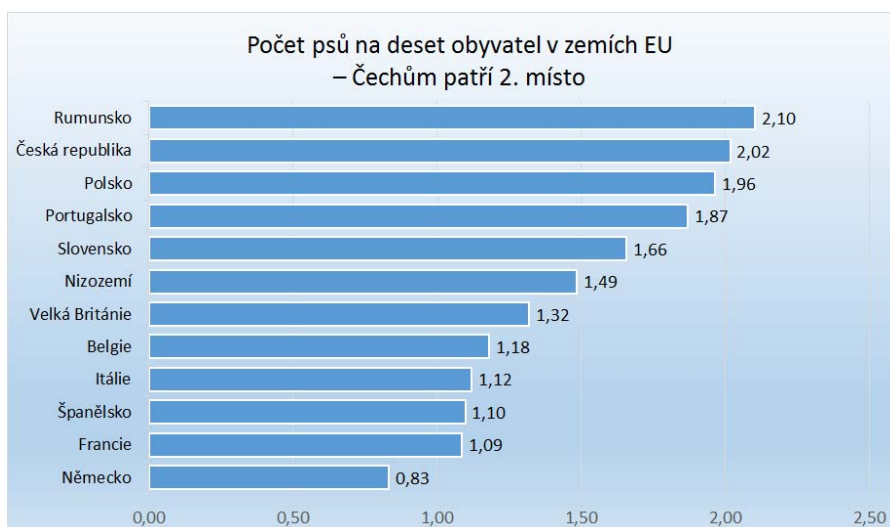
ČR je v Evropské Unii na 8. místě v počtu domácností sdílenými se psy a na 11. místě v počtu domácností sdílenými s kočkami (viz **Tabulka 10**).

stát EU	počet domácností s kočkami (mil)	stát EU	počet domácností se psy (mil)
Francie	11,5	Anglie	9,0
Německo	8,2	Francie	7,6
Anglie	8,0	Polsko	7,3
Itálie	7,4	Itálie	7,0
Polsko	5,6	Německo	5,3
Rumunsko	3,9	Španělsko	4,7
Španělsko	3,4	Rumunsko	4,2
Holandsko	2,9	Česká republika	3,2
Maďarsko	2,2	Maďarsko	2,9
Belgie	1,9		
Česká republika	1,8		

Tabulka 10: Frekvence domácností EU s DM (2018)

Zdroj: <https://www.petsecure.com.au/pet-care/a-guide-to-worldwide-pet-ownership/>

Vzhledem k celkovému počtu domácností dle Evropské federace zvířecího krmiva (European Pet Food Federation; FEDIAF 2018) je ČR po Rumunsku nejfrekventovanější v držení DM, k nimž bezesporu patří pes (41 % domácností: 2,02 mil.) (viz **Obř. 14**) a kočka (22,33 % domácností: 1,1 mil). Podle průzkumu agentury Focus (2018) celkový počet DM v ČR se pohybuje kolem 4 mil. a stále narůstá. Podíl domácností s DM mezi rokem 2010 a 2017 stoupl z 51 na 58 %.



Obrázek 14: Domácnosti sdílené se psy (2018)

Zdroj: <https://www.sancedetem.cz/srv/www/content/pub/cs/clanky/pocet-psu-na-deset-obyvatel-v-eu-cechum-patri-2-misto-198.html>

Ve Velké Británii se behaviorální studie zúčastnilo 260 domácností. Bylo zjištěno, že pouze 14 % majitelů sdílí postel se svým psem, ale celkově 45 % koček spí vedle majitele na posteli. Studie provedená v Holandsku poukazuje na to, že 50 % majitelů dovolí zvířeti olizovat obličej, 45 % psů a 62 % koček může vylézt na postel majitele, ale maximálně 30 % mazlíčků může spát s majitelem v jedné posteli olizovat obličej, 45 % psů a 62 % koček může vylézt na postel majitele, ale maximálně 30 % mazlíčků může spát s majitelem v jedné posteli (Chomel et Sun 2011).

Také průzkumu Focus Research se zúčastnilo 1030 respondentů a také se ukázalo, že v 75 % případech je domácím mazlíčkem pes, 40 % chová kočku a chov ostatních zvířat je v menšině (Focus, 2014).

V předkládané práci jsme sledovali 125 domácností, které byly sdíleny 150 majiteli a 135 domácími mazlíčky. Byli zachyceni rovněž především psi 110 (81,48 %), což potvrzuje výsledky ostatních studií, po nich kočky 18 (13,33 %) a 7 ostatních domácích mazlíčků (5,19 %). U 131 majitelů (87,33 %) byl CI více než 4, což svědčí o velmi blízkém vztahu testovaných majitelů k domácím mazlíčkům. 92 majitelům (61,33 %) jejich domácí mazlíčci olizují tvář, 100 majitelů (66,67 %), účastníci se studie, nechává svého domácího mazlíčka spát ve své posteli, 65 sledovaných majitelů (43,33 %) používá stejné nádobí a někdy i lžíci ke společnému jídlu se svým domácím mazlíčkem. Je to zřejmě dáno silnou emocionalitou českých chovatelů a blízkým vztahem ke zvířatům jako k přátelům, o čemž svědčí i mnohdy vyšší lékařská péče než o lidi. Někdy jsou bohužel domácí mazlíčci módními doplňky či suplují děti nebo dokonce partnery.

4.2 IZOLOVANÉ DRUHY VM

Meason-Smith et al. (2015) charakterizovali kožní mykobiotu 18 psů. Sledovali vliv lokalizace odběru, jednotlivé psy a jejich zdravotní stav na distribuci druhů hub za použití celogenomových sekvenačních metod. 10 psů bez dermatologického onemocnění v anamnéze bylo odebráno na deseti odlišných místech těla sestávajících z kůže sliznice. Osm psů s diagnostikovanou kožní alergií bylo odebráno na šesti místech těla, které jsou obvykle postiženy. Analýzy ukázaly, že lokalizace odběru není faktorem ovlivňujícím zastoupení nebo strukturu mykobioty zdravé kůže, avšak sliznice byly kolonizovány užším druhovým spektrem. Mykobiota alergické kůže byla významně chudší než kůže zdravých psů. Zajímavým zjištěním bylo, že nejčastěji byly izolovány na kůži sledovaných psů bez ohledu na zdravotní stav rody *Alternaria* a *Cladosporium*, dva z nejčastějších alergenů člověka (Meason et al. 2015).

Druhy VM izolované z kůže našeho souboru psů byla podobná. Byl však odebrán jen menší počet vzorku z postižených oblastí kožních lézí. Nejčastější zástupci z kožního materiálu byla *Cladosporium herbarum* a *Actinomyces elegans*, *Alternaria alternata* a dva druhy rodu *Penicillium* (*P. thomii* a *P. commune*). Dermatofyt, *Microsporum canis*, byl izolován pouze v jediném případě u psa. Ostatní 3 izoláty *M. canis* byly izolovány z uší a nosní sliznice asymptomatických koček.

Stejnými metodami titíž autoři (2017) sledovali také mykobiotu koček. Odebrali 132 vzorků z 11 zdravých koček a 54 vzorků z 9 alergických koček. Zdravé kočky byly odebrány na dvanácti místech těla a alergické na šesti místech. Nejpočetnějšími sekvencemi VM z kůže všech koček byly identifikovány do rodů *Cladosporium* a *Alternaria*. Nálezy ze sliznic, včetně nosní dírky, spojivky a reprodukčních traktů, byly mykologicky nejméně početné, zatímco zevní zvukovod vycházel mykologicky nejpočetnější. Alergická kočičí kůže měla významně větší množství zástupců z tříd Agaricomycetes a Sordariomycetes, významně však méně zástupců rodu *Epicoccum* ve srovnání se zdravými kočkami.

V kočičím zvukovodu bylo izolováno 22 druhů VM. Nejčastějším nálezem byl *Aspergillus niger* (8/44,44 %), který je ovšem běžně nalézán i v ušním mazu lidí. I v naší studii v celkovém množství výtěrů zvukovodu DM také dominoval (téměř 30 %). Rod *Penicillium* byl izolován z poloviny vzorků z kočičích zvukovodů, nejčastěji druh *Penicillium chrysogenum*. Zygomycety byly izolovány v 6 výtěrech ze zvukovodu (33,33 %). Nosní sliznice koček se svým složením VM lišila. Nebyly zde tak často izolovány zygomycety. Je to pravděpodobně dáno tím, že kočky se neřídí tolik čichem a nevdechují takové množství spór

a především koprofilních zygomycet jako psi. Navíc kočky, které s majitelem sdílí domácnost, ani v jednom případě neopouštěly domácnost narozdíl od psů, kteří chodí na procházky se svým majitelem. Bylo zde izolováno 23 druhů, z nichž nejčastěji bylo izolováno *Cladosporium herbarum*. Domníváme se však, že teprve opětovné sledování druhového spektra domácích mazlíčků má větší výpovědní hodnotu, jaké druhy VM jsou kolonizátoři a jaké jen efemérní kontaminanty kůže a sliznic.

Studie v jižní Francii měla za cíl popsat mykoflóru spojivky u klinicky zdravých psů a porovnat se spojivkou a přilehlých kožních oblastí (mediální komisura a nos). 50 psům ve věku od 5 měsíců do 13 let byly odebrány vzorky. Vzorky byly získány ze spojivek a z kůže střední komisury a z povrchu nosu pomocí sterilních vatových tamponů. Narostlé kolonie hub byly identifikovány na základě makro a mikroznačků na úroveň rodu. 14 rodů hub (nejčastěji *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* a *Aspergillus*) bylo izolováno ze spojivkového vaku 7 psů (14 %). Nebyl prokázán významný vliv pohlaví nebo věku na počet izolátů hub. Jedenáct psů (22 %) mělo mykologický nález alespoň z jednoho oka (Verneuil et al. 2014).

Houby nalezené ve spojivkových vacích psů v naší studii mohou zřejmě rovněž představovat přechodnou kontaminaci ze vzduchu a prostředí. Podobně by tomu mohlo být také u jiných živočišných druhů. Druhové složení houbových druhů ze spojivek odpovídal druhovému složení hub na kůži, což potvrzuje i naše studie. Našich vzorků ze spojivky však byla u převážné většiny mykologicky negativní, neboť se ve všech případech jednalo o lézi způsobenou bakteriální infekcí. V nosní sliznici převažovaly zygomycety.

Dermatologická veterinární studie byla provedena s cílem identifikovat odlišnosti ušní mykoflóry 42 zdravých psů, 23 atopických psů bez klinických nebo cytologických důkazů otitis a 32 psů s otitis externa. Vzorky pro kultivaci hub a cytologii byly získány ze všech zvířat, celkem 194 uší. U 67 vzorků (34 %) byl pozitivní mykologický nález. Izolované VM patřily ve 43 případech do rodu *Penicillium* (64 %), ve 13 případech do rodu *Aspergillus* (19 %) a ve zbývajících 17 % byly izolovány ostatní saprofytické houby. Cytologický důkaz kolonizace VM nebo infekční proces nebyl nalezen u žádného zvířete. Nebyl nalezen žádný vztah mezi izolovanou VM a sledovanými skupinami psů (Campbell et al. 2010).

Studiem Mucorales a Entomophthorales se zabývali Ribes et al. (2000). Zjistili, že většinu humánních zygomykóz způsobují zástupci řádu Mucorales. Nejčastějším patogenem je *Rhizopus microsporus* a *R. arrhizus*, dále *Mucor*, *Rhizomucor* a *Absidia*.

V pilotní studii (2018) jsme z odebraných lidských stěrů nejčastěji izolovali *R. stolonifer*, který byl přítomen u 30 % vzorků z mezprstí nohou majitele. Druhým

nejčastějším druhem byl *M. plumbeus* 20 %. *R. arrhizus*, *R. microsporus* a *M. hiemalis* se vyskytly pouze u 5 % případů (Wipler et al. 2018).

Také v předložené studii potvrzujeme nejčastější přítomnost *Rhizopus stolonifer* v meziprstí nohou u chovatelů DM (26 %). Avšak porovnání s meziprstím nohou nechovatelů, kde byl tento druh izolován ve 23 případech (75 %), spíše poukazuje na to, že se jedná o přirozenou kolonizaci, přestože patří mezi velmi často sdílené nepatogenní druhy VM. Je nutné brát ohled i na ten fakt, že se jedná o častou půdní houbu a i chráněné chodidlo se přes obuv kontaminuje.

Sedlák et Tomšíčková (2006) uvádějí, že až u 90 % koček a psů může za dermatomykózy *M. canis*.

Tento zoofilní druh způsobuje dermatomykózy také u lidí. Ve dvou případech naší studie byla tato keratofilní houba také sdílena. V obou domácnostech zde byla DM kočka. Usuzujeme, že zde jde pravděpodobně o zoonotický přenos z DM na chovatele, u něhož se dosud neobjevily kožní klinické projevy. Antropozofilní transmise tohoto velmi nakažlivého dermatofytu z asymptomatického psa na člověka popisuje v přehledovém článku Katoh et al. (1991). Asymptomatické zvířecí rezervoáry *M. canis* jsou považovány za kritický epidemiologický faktor dermatomykóz u lidí.

Cafarchia et al. (2006) sledovali celkem 136 psů a 248 koček. 78 zvířat (22 psů a 56 koček) patřilo jedincům postiženým *tinea corporis* způsobeným *M. canis* a 306 (114 psů a 192 koček) až jedinci bez dermatofytózy. U každého zvířete byl zaznamenán věk, pohlaví, plemeno, lokalita a období, kdy byl odběr proveden. Dermatofyty byly izolovány z 20,5 % psů a 28,2 % koček. *M. canis* byl izolován z 36,4 % psů žijících ve společné domácnosti s majiteli diagnostikovanými *tinea corporis*, ale nikdy nebyl izolován od psů, jejichž majitelé byli asymptomatictí. Naproti tomu *M. canis* byl izolován z 53,6 % koček žijících ve společné domácnosti s majiteli diagnostikovanými *tinea corporis* a 14,6 % koček, jejichž majitelé neměli žádné známky onemocnění. Jejich výsledky jasně ukazují, že jak kočky, tak psi jsou považováni za hlavní zdroj patogenních dermatofytů u lidí, i když jsou asymptomatictí.

Také v naší studii byl *M. canis* sdílen ve dvou domácnostech, kdy byly jako DM asymptomatické kočky.

Japonská studie Kano (2012) uvádí *M. canis* jako nejčastějšího zoofilního původce dermatomykóz přenášeného z DM na člověka.

4.3 VLIV ATB TERAPIE NA DRUHOVOU POČETNOST VM

Lidské tělo je osídlováno komplexním a heterogenním mikrobiálním ekosystémem, který hraje důležitou roli ve zdraví hostitelů. Tento mikrobiální ekosystém zahrnuje také houbovou složku, která je blokována rychle rostoucí složkou bakteriální. Pokud dojde k narušení tohoto bloku například podáváním specifických antibakteriálních látek, dojde ke zvýhodnění mykobioty, která růst hub neovlivňuje, navíc potlačí konkurenční flóru bakteriální.

Noverr et al. (2004) sledovali na myších souvislost mezi střevní dysbiózou vyvolanou ATB a alerickým astmatickým onemocněním, které předtím pozorovali u pacientů dlouhodobě léčenými ATB. Pokusná zvířata měla stabilní zvýšení gastrointestinálních enterobakterií a kandid bez zavedení mikrobů do plic. Myši byly ošetřovány po dobu 5 dnů cefoperazonem (cefalosporinové ATB 3. generace) v pitné vodě. Poté jim byla zavedena jediná orální žaludeční sonda s *C. albicans*. Následovaly pak změny gastrointestinálních populací bakterií a zvýšení počtu kvasinek po dobu alespoň 2 až 3 týdnů, což způsobilo rozvoj alergické odpovědi dýchacích cest zprostředkované CD4 T-buňkami po následné expozici konidiálního aerosolu *Aspergillus fumigatus*. U myši, kterým ATB nebyla podávána, se po expozici konidií *A. fumigatus* žádná alergická reakce nevyvinula. Tato studie přinesla první experimentální důkaz o vlivu ATB na střevní mykobiotu při současné podpoře rozvoje alergických onemocnění dýchacích cest.

Naše nedávná pilotní studie zaměřená na stejnou problematiku sice ukázala silnou korelaci mezi užíváním ATB terapie v posledním roce a druhovou početností izolovaných hub, ale zároveň se odvolala na malý počet měření. ATB totiž užívalo pouze 5 (25 %) sledovaných DM a 5 (25 %) sledovaných chovatelů (Wipler et al. 2018).

V předložené studii 46 (34,05 %) testovaných zvířat a 43 (28,67 %) testovaných majitelů užívalo v posledním roce ATB léčbu. U chovatelů ani u DM neměla ATB terapie statistický významný vliv ani na druhové množství izolovaných VM a ani na počet sdílených druhů VM v porovnání s těmi majiteli a DM, které naopak žádnou ATB terapii za poslední rok nepodstoupili. U kontrolní skupiny 25 (31,25 %) uživatelů ATB se ukázal naopak statisticky významný vliv na druhovou početnost VM. Vysvětlením může být prodloužená doba u nechovatelů DM, kdy se narušený ekosystém vrací do původní rovnováhy. U chovatelů je po dobu jejich léčby ATB rezervoárem bakteriálních druhů tvořící mikrobiotu jejich zvířecí mazlíček. Po ATB terapii se obnoví rovnovážný ekosystém proto rychleji než u nechovatelů.

5. ZÁVĚR

Cílem studie bylo ověřit, zda mykobiota DM komunikuje s mykobiotou jejich chovatelů sdílející společnou domácnost. Byly sledovány vlivy, které k této komunikaci mohou významně přispívat: ATB terapie za poslední rok, doba, během které je domácnost majitelem a jeho zvířetem sdílena a také míra intimity vztahu mezi nimi. Výsledky této studie naznačují, že blízký vztah chovatele s DM nepředstavuje pro zdravý makroorganizmus s normálně fungujícím imunitním systémem žádné zdravotní riziko z hlediska mykopatogenů či mykoalergenů. Výjimku tvoří dermatofyta vyvolávající kožní infekce. DM se mohou uplatňovat jako jejich asymptomatictí distributoři. Zde je na místě preventivní vyšetření před příjmem DM do domácnosti jako jejího člena.

Poměrně stabilní ekologická rovnováha, která panuje mezi houbovou (mykobiotou) a bakteriální složkou (bakteriobiou) se zdá být velmi silná. Doba chovu DM stejně jako blízký kontakt mezi chovatelem a DM tuto rovnováhu neovlivňuje. Rovnovážný stav obou složek však může být dočasně narušen inhibičními látkami, jaké představují ATB, ale naše výsledky naznačují, že u chovatelů stejně jako u DM se obnovuje rychleji než u nechovatelů DM.

Sdílení domácnosti s DM, blízký kontakt s nimi a časté venčení pravděpodobně podporují imunitní systém a zároveň i dobrý psychický stav daleko více než život v dezinfikované domácnosti s minimálním stykem s bakteriemi a houbami z vnějšího prostředí.

6. PŘEHLED LITERATURY

Alvin So, W.L. et Hardy, T.G. (2012): *Aspergillus niger* infection of an orbital exenteration socket can be treated with oral itraconazole. *Ophthalmological Medicine*; ID 763651, 2 pages.

Adams, J. (2008): Complex genomes: Shotgun sequencing. *Nature Education*. **1(1)**:186.

Arrieta, M.C. et al. (2018): Associations between infant fungal and bacterial dysbiosis and childhood atopic wheeze in a nonindustrialized setting. *J Allergy Clin Immunol*. **142(2)**: 424–434.

Arumugam, M. et al. (2011): Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. **473**:174–80.

Bednář, M. et al. (2009): Lékařská mikrobiologie Triton, Praha, 560 stran, ISBN: 80-2380-297-6

Beneš, J. (2009): Infekční lékařství. Praha: Galén, 2009: 1. vyd. ISBN 978-807-2626-441.

Bennett, J.W. et Klich, M. (2003): Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*. **16(3)**: 497–516.

Bensch, K. et al. (2010): Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). *Studies in Mycology*. **67**: 1–94.

Bensch, K. et al. (2012): The genus *Cladosporium*. *Stud Mycol*. **72(1)**:1-401.

Boudghène-Stambouli, O. et Mérad-Boudia, A. (1994): Chromomycosis: 2 cases. *Ann Dermatol Venereol*. **121(1)**:37-9.

Brandwagt, B.F. et al. (2001): Most AAL toxin-sensitive *Nicotiana* species are resistant to the tomato fungal pathogen *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Mol Plant Microbe Interact*. **14(4)**:460-70.

Branham, B.E. et Plattner R.D. (1993): Alanine is a precursor in the biosynthesis of fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*. **124(2)**: 99-104.

Buchta, V. et al. (2010): Nepodkročitelné minimum laboratorní diagnostiky invazivních mykotických infekcí – doporučení odborníků s podporou CELL a SLM JEP. *Postgraduální medicína*, **12** (příloha 5)

Bui-Klimke, T.R. et Wu, F. (2014): Ochratoxin A and human health risk: A review of the evidence. *Crit Rev Food Sci Nutr*. **55(13)**: 1860–1869.

Bumroongthai, K. et al. (2016): Biofilm production and antifungal susceptibility of co-cultured *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from canine seborrheic dermatitis. *Med Mycol*. **54(5)**:544-9. doi: 10.1093/mmy/myw002.

Burger, H.M. et al. (2018): Modulation of key lipid raft constituents in primary rat hepatocytes by fumonisin B1 - Implications for cancer promotion in the liver. *Food Chem Toxicol*. **115**:34-41.

Campbell, J.J. et al. (2010): Evaluation of fungal flora in normal and diseased canine ears. *Veterinary Dermatology*. **21(6)**: 619-25.

Clark, A.E. et al. (2013): Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin. Microbiol.* **26**: 547–603.

Cendoya, E. et al. (2018): Influence of water activity and temperature on growth and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* strains on irradiated wheat grains. *Int J Food Microbiol.* **266(2)**:158-166.

da Rocha, M.W. et al. (2015): Purification and full characterisation of citreoviridin produced by *Penicillium citreonigrum* in yeast extract sucrose (YES) medium. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* **32(4)**: 584-595.

de Hoog, G.S. et al. (2000): Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Universitat Rovira i Virgili. Utrecht. Reus, ISBN 90-70351-43-9 str.1-48.

de Hoog, G.S. et al. (2015): Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice. *J Clin Microbiol.* **53(4)**: 1056–1062.

Diaz, P.I. et al. (2014): Fungal-bacterial interactions and their relevance to oral health: linking the clinic and the bench. *Front Cell Infect Microbiol.* **29(4)**:101.

Fragner, P. (1984): Malá lékařská mykologie Avicenum, Praha, 192 stran, ISBN 08-004-84.

Fredricks, D.N. et al. (2005): Comparison of Six DNA Extraction Methods for Recovery of Fungal DNA as Assessed by Quantitative PCR. *J Clin Microbiol.* **43(10)**:5122–5128.

Frisvad, J.C. et al. (2018): Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Stud Mycol.* **93**:1-63.

Eigner, U. et al. (2009): Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clin Lab*, **55(7-8)**:289-296.

Gallagher, R.T. et al. (1980): The janthitrems: fluorescent tremorgenic toxins produced by *Penicillium janthinellum* isolates from ryegrass pastures. *Appl Environ Microbiol.* **39(1)**: 272–273.

Garbee, D.D. et al. (2017): Opportunistic fungal infections in critical care units. *Crit Care Nurs Clin North Am.* **29(1)**:67-79.

Ghannoum M.A. et al. (2010): Characterization of the Oral Fungal Microbiome (Mycobiome) in Healthy Individuals. *PLoS Pathog.* **6(1)**: e1000713.

Girouard, G.G. et al. (2007): Observations of (1→3)-β-D-glucan detection as a diagnostic tool in endemic mycosis caused by *Histoplasma* or *Blastomyces*. *J Med Microbiol*, **56(Pt 7)**: 1001-1002.

Gnat, S. et al. (2018): Tinea corporis by *Microsporum canis* in mycological laboratory staff: Unexpected results of epidemiological investigation.

Green, B.J. et al. (2003): Allergen detection from 11 fungal species before and after germination. *J Allergy Clin Immunol*, **111(2)**:285-9.

Greenwood, D. et al. (1999): Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Překlad Jiří Schindler. Praha: Grada, 1. vyd. ISBN 80-716-9365-0.

Gürcan, S. et al. (2008): Cutaneous infection caused by *Alternaria alternata* in an immunocompetent host. *Mikrobiyol Bul.* **43(1)**:163-7.

Haber, J. (1995): Systémové mykózy a jejich léčba Galén, Praha, 320 stran, ISBN 80-85824-16-7.

Hayashida, M.Z. et al. (2018): Disseminated fusariosis with cutaneous involvement in hematologic malignancies: report of six cases with high mortality rate. *An Bras Dermatol.* **93(5)**:726-729.

Hedayati, M.T. et al. (2007): *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology.* **153**; 1677–1692.

Henke, M.O. et al. (2002): Human Deep Tissue Infection with an Entomopathogenic *Beauveria* Species. *J Clin Microbiol.* **40(7)**: 2698–2702.

Hermoso-de-Mendoza, M. et al. (2010): Zoonotic ringworm outbreak caused by a dysgonic strain of *Microsporium canis* from stray cats. *Rev Iberoam Micol.* **27**: 62-65.

Hubka, V. et al. (2014): Současný vývoj v taxonomii dermatofytů a doporučení pro pojmenovávání klinicky významných druhů. *Československá dermatologie.* **89(4)**: 151-165. ISSN: 0009-0514; 1805-448X (elektronická verze).

Chen, F.C. et al. (1982): Acute toxicity of PR toxin, a mycotoxin from *Penicillium roqueforti*. *Toxicon.* **20(2)**:433-41.

Chollet, A. et al. (2015): An outbreak of *Arthroderma vanbreuseghemii* dermatophytosis at a veterinary school associated with an infected horse. *Mycoses.* **58(4)**:233-8.

Chomel, B.B. et Sun B. (2011): Zoonoses in the Bedroom. *Emerging Infectious Diseases.* **17(2)**:167-172.

Chumchalová et al. (2014): Miniatlasy mikroorganismů online. Praha: VŠCHT, b.r.: <https://old.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/aureob.htm>

Ibañez Perez, R et al. (1997): Peritonitis by *Aureobasidium pullulans* in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant.* **12(7)**:1544-5.

Jedličková, A. (2006): Systémové mykózy Maxdorf, Praha, 130 stran, ISBN 80-7345-101-8

Kalina, T. et Váňa, J. (2006): Sinice, řasy, houby a mechorosty v systému šesti říší Karolinum, Praha, 608 stran, ISBN 80-246-1036-1.

Kano, R. (2012): Cutaneous mycoses in Japan originating from animals. *Med Mycol J.* **53(1)**:19-23.

Kantarcioğlu et al. (2002): Case report. Isolation of *Cladosporium cladosporioides* from cerebrospinal fluid. *Mycoses*. **45(11–12)**: 500–503.

Katoh, T. et al. (1991): Tinea corporis due to *Microsporum canis* from an asymptomatic dog. *J Dermatol*. **18(6)**:356-9.

Kod'ousek, R. (2003): Mykózy: lékařsky významná mykotická onemocnění člověka. Olomouc: Univerzita Palackého: 1. vyd. ISBN 80-244-0649-7.

Koukalová, D. et al. (2011): Praktická cvičení z lékařské mikrobiologie II 2. vydání, Univerzita Palackého Olomouc, 128 stran, ISBN-13: 978-80-244-2964-9.

Krejsek, J. et Kopecký, O. (2004): Klinická imunologie Nucleus HK, 941 stran, ISBN 80-86225-50-X.

Kubátová, A. (2006): Atlas mikroskopických saprotrfních hub (Ascomycota). <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-mikroskopickych-saprotrfnich-hub-ascomycota>.

Kubátová, A. et Váňová, M. (2009): Atlas zygomycetů. <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-zygomycetu>.

Kuzhwaha, R.K.S. et Guarro, J. (2000): Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología. ISBN 84-607-0711-3.

Kwong, J.C. et al. (2015): Whole genome sequencing in clinical and public health microbiology. *Pathology*. **47(3)**:199-210.

Larone, D.H. (1995): Medically important fungi, a guide to identification. ASM Press. Washington, 1995. ISBN 1-55581-091-8 str. 91, 105-6, 121-2, 161, 185.

Lengerová, M. et al. (2009): Úloha PCR v diagnostice invazivní aspergilózy. *Postgraduální medicína*, **15 (S4)**: 43-47.

Li, C.H. et al. (2011): Sporangiospore Size Dimorphism is linked to virulence of *Mucor circinelloides*. *PLoS Pathog*. **7(6)**: e1002086.

Maartens, G. et Wood, M.J. (1991): The clinical presentation and diagnosis of invasive fungal infection. *J Antimicrob Chemother*. **28 (A)**:13-22.

Madigan, M.T. et al. (2012): Brock Biology Of Microorganisms: global edition. 13th edition, Pearson, Boston, 1150 stran, ISBN 978-0-321-73551-5.

Mahmud, A. et al. (2012): *Actinomucor elegans* as an emerging cause of mucormycosis. *J Clin Microbiol*. **50(3)**: 1092-5.

Malíř, F. et Ostrý, V. et al. (2003): Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. 1. vydání, 349 stran, ISBN 80-7013-395-3.

- Mantle, P.G. et al. (1981):** Biosynthesis of penitrems and roquefortine by *Penicillium crustosum*. *Appl Environ Microbiol.* **45(5)**:1486-90.
- Marples, M.J. (1956):** The ecology of *Microsporum canis* Bodin in New Zealand. *J Hyg (Lond)*. **54(3)**: 378–387.
- Maxam, A.M. et Gilbert, W. (1977):** A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, **74**: 560–564.
- Meason-Smith, C. et al. (2015):** What is living on your dog's skin? Characterization of the canine cutaneous mycobiota and fungal dysbiosis in canine allergic dermatitis. *FEMS Microbiol Ecol.* **91(12)**: fiv139.
- Meason-Smith, C. et al. (2017):** Characterization of the cutaneous mycobiota in healthy and allergic cats using next generation sequencing. *Vet Dermatol.* **28(1)**:71-e17.
- Mennink-Kersten, M.A. et Verweij, P.E. (2006):** Non-culture-based diagnostics for opportunistic fungi. *Infect Dis Clin*, **20**: 711–727.
- Mennink-Kersten, M.A. et al. (2006):** In vitro release by *Aspergillus fumigatus* of galactofuranose antigens, 1,3-beta-D-glucan, and DNA, surrogate markers used for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*, **44(5)**: 1711-1718
- Mercier, T. et Maertens, J. (2017):** Clinical considerations in the early treatment of invasive mould infections and disease. *J Antimicrob Chemother.* **72(1)**:29-38.
- Mishra, G.S. et al. (2004):** Chronic bilateral otomycosis caused by *Aspergillus niger*. *Mycoses.* **47(1-2)**: 82-4.
- Mitsuya, M. et al. (1994):** In vitro studies on the release of G Testpositive (1-3)- β -D-glucan from various fungal pathogens: In Committee on organic dusts. *Rylander, R. and Goto, H. editors.* **94(1)**: 29-37.
- Muntau, A.C. (2009):** Pediatrie. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2525-3.
- Muyzer, G. et al. (1993):** Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol*, **59(3)**: 695-700.
- Nadkarni, M.A. et al. (2002):** Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*, 148 (Pt 1): 257-266.
- Nesic, K. et al. (2014):** Fusarial toxins: secondary metabolites of *Fusarium* fungi. *Rev Environ Contam Toxicol.* **228**:101-20.
- Ng, K.P. et al. (2012):** Sequencing of *Cladosporium sphaerospermum*, a Dematiaceous fungus isolated from blood culture. *Eukaryot Cell.* **11(5)**:705-6.
- Nishida, H. et Nyshiyama, M. (2000):** What is characteristic of fungal lysin synthesis through the alphaaminoadipate pathway? *J Mol Evol.* **51 (3)**: 299-302.

Noverr, M.C. et al. (2004): Role of Antibiotics and Fungal Microbiota in Driving Pulmonary Allergic Responses. *Infect Immun.* **72(9)**: 4996–5003.

Nsofor, C.A. (2014): DNA microarrays and their applications in medical microbiology. ISSN 1538-2273; *Academic Journals* **9(1)**: pp.1-11.

Ozdemir, H.G. et al. (2016): Infrequent production of xanthomegnin by fungal strains recovered from patients with ocular mycoses. *Mycopathologia.* **181(3-4)**: 241-6.

Panda, A. et al. (2006): *Aureobasidium pullulans* keratitis. *Clin Exp Ophthalmol.* **34(3)**: 260-4.

Peterson, R.E. et Grove, M.D. (1983): Isolation of xanthomegnin from *Penicillium viridicatum* by preparative high-pressure liquid chromatography. *Appl Environ Microbiol.* **45(6)**: 1937–1938.

Peterson, S.W. et al. (2001): *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia.* **93(4)**: 689-703.

Pitt, J. I. et Hocking, A. D. (2009): Fungi and food spoilage. 3. vydání, Springer science + Business media, LLC; 503 stran, ISBN 978-0-387-92206-5.

Pitt, J. I. et Leistner, L. (1991): Toxigenic *Penicillium* species, p. 81–100. In J. E. Smith and R. S. Henderson (ed.), *Mycotoxins and animal foods*. CRC Press Inc., Boca Raton, Fla.

Plíšková, L. et al. (2007): SeptiFast – test pro detekci původců sepse. *Bulletin FONS; Laboratorní technologie.* **3**: 14-17.

International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (ICN) 2012

Qin, J. et al. (2010): A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* **464**:59–65.

Remmele, C.W. et al. (2015): Integrated inference and evaluation of host–fungi interaction networks. *Front Microbiol.* **6**: 764.

Ribeiro, S.C. et al. (2005): A novel cause of invasive pulmonary infection in an immunocompetent patient: *Aspergillus candidus*. *J Infect.* **51(4)**:e195-7.

Ribes, J.A. et al. (2000): Zygomycetes in human disease. *Clin Microbiol Rev.* **13(2)**: 236–301.

Salit, R.B. et al. (2010): Death by edible mushroom: first report of *Volvariella volvacea* as an etiologic agent of invasive disease in a patient following double umbilical cord blood transplantation. *J Clin Microbiol.* **48(11)**: 4329–4332.

Sanger, F. et al. (1977): DNA sequencing and chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, **74**: 5463–5467.

Santos, C. et al. (2010): Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Appl Microbiol.* **108(2)**:375-85.

Saurabh, P. et al. (2017): Toxicological effects of patulin mycotoxin on the mammalian system: an overview. *Toxicol Res (Camb)*. **6(6)**: 764–771.

Seidler, N.W. et al. (1989): Cyclopiazonic acid is a specific inhibitor of the Ca^{2+} -ATPase of sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* **264**:17816–17823.

Shaikh, N. et al. (2016): Entomophthoromycosis: a neglected tropical mycosis. *Clin Microbiol Infect.* **22(8)**: 688-94.

Skiada, A. et al. (2011): Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clin Microbiol Infect.* **17(12)**:1859-67.

Smith, G.W. et al. (2002): Cardiovascular changes associated with intravenous administration of fumonisin B1 in horses. *Am J Vet Res.* **63(4)**:538-45.

Surmont, I. et al. (2002): A pulmonary infection caused by *Coprinus cinereus* (*Hormographiella aspergillata*) diagnosed after a neutropenic episode. *Medical Mycology*: **40**: 217–219.

Tietz, H. J. et Hammerling, R. (2007): Význam zoofilních dermatofytů pro člověka. *Prakt Tierarzt.* **88(2)**:78-86.

Tucker, D.L. et al. (2004): Disseminated *Beauveria bassiana* infection in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Microbiol.* **42(11)**: 5412–5414.

Tully, C.C. et al. (2009): Fatal *Actinomucor elegans* var. *kuwaitiensis* infection following combat trauma. *J Clin Microbiol.* **47(10)**:3394-9.

Ueno, I. et al (1995): Spin-trapping and direct EPR investigations on the hepatotoxic and hepatocarcinogenic actions of luteoskyrin, an anthraquinoid mycotoxin produced by *Penicillium islandicum* Sopp. Generations of superoxide anion and luteoskyrin semiquinone radical in the redox systems consisted of luteoskyrin and liver NADPH- or NADH-dependent reductases. *Free Radic Res.* **23(1)**:41-50.

Underhill, D.M. et Iliev I.D. (2014): The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nat Rev Immunol.* **14(6)**:405–416.

van Veen, S.Q. et al. (2010): High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories.. **48(3)**: 900-907.

Verneuil, M. et al. (2014): Conjunctival and cutaneous fungal flora in clinically normal dogs in Southern France. *Journal of Medical Mycology* **24(1)**: 25-28.

Verweij, P.E. et al. (1997): Fatal Pulmonary Infection Caused by the Basidiomycete *Hormographiella aspergillata*., *J Clin Microbiol*; ISBN 0095-1137/97/\$04.001, p. 2675–2678.

Votava, M. (2003): Lékařská mikrobiologie speciální 1. vydání, Neptun, Brno, 495 stran, ISBN-10: 80-902896-6-5

Walter, S. L. (2002): Acute penitrem A and roquefortine poisoning in a dog. *Can Vet J.* **43(5):** 372–374.

Wang, X. et al. (2016): Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. *Arch Toxicol.* **90(1):** 81-101.

Wiedmann, W.J.W. et al. (1994): Ligase chain reaction (LCR)-- overview and applications. *Genome Res*, 3: The ligase chain reaction in a PCR world. *Genome Reserch.* <http://nar.oxfordjournals.org/content/23/4/675>

Wipler, J. et al. (2017): Sharing bacterial microbiota between owners and their pets (dogs, cats). *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* **23(2):**48-57

Wipler, J. et al. (2018): Pets (dogs/cats) as a possible source of opportunistic pathogenic fungi in humans. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* **24(2):**41-49.

Yu, J.H. et Leonard, T.J. (1995): Sterigmatocystin biosynthesis in *Aspergillus nidulans* requires a novel type I polyketide synthase. *J Bacteriol.* **177(16):** 4792–4800.

Zachary, D. et al. (2011): Cutaneous mucormycosis complicating a polymicrobial wound infection following a dog bite. *Case Rep Infect Dis.* ID 348046.

Zalar, P. et al (2007): Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments. *Stud Mycol.* **58:**157-83.

<http://www.biotox.cz/toxikon/mikromycety/sterigmatocystin.php>

[https://www.bezpecnostpotravin.cz/fediaf-evropska-federace-vyrobcu-krmiv-pro-domaci-zvirata-\(the-european-pet-food-industry-federation\).aspx](https://www.bezpecnostpotravin.cz/fediaf-evropska-federace-vyrobcu-krmiv-pro-domaci-zvirata-(the-european-pet-food-industry-federation).aspx)

<https://ulbld.lf1.cuni.cz/file/667/Mikrobiologie%20-%20Ad%C3%A1mkov%C3%A1%20V.,%20Kol%C3%A1%C5%99ov%C3%A1%20L.pdf>

<https://www.healio.com/hematology-oncology/learn-genomics/whole-genome-sequencing/whole-genome-sequencing-methods>

<https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/alternaria/>

<https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/dermatophytes/trichophyton/>

<https://www.petsecure.com.au/pet-care/a-guide-to-worldwide-pet-ownership/>

<http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Allergens/Molds-and-other-Microorganisms/Allergens/Alternaria-alternata/>

Share of households owning at least one dog in the European Union in 2017, by country (www.statista.com) <https://www.sancedetem.cz/srv/www/content/pub/cs/clanky/pocet-psu-na-deset-obyvatele-v-eu-cechum-patri-2-misto-198.html>

7. SEZNAMY

7.1 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

A	anamorfa (asexuální stádium)
AAT	alternaria alternata toxin
AFT	aflatoxiny
Ag	antigen
ATB	antibiotika, antibiotický
CBCS	sekvenace klon po klonu
CI	Contact Index
CNS	centrální nervový systém
CYA	Czapkův agar s kvasničným extraktem
CZA	Czapkův agar
D	dermatofyta
E	entomophthoromycety
DM	domácí mazlíčci
ELISA	„enzyme linked immunosorbent essay“
FMS	fumonisin
GIT	gastrointestinální trakt
HH	hyalinní hyfomycety
LCR	ligázová řetězová reakce
MALDI TOF	„matrix assisted laser desorption/ionization – time of flight“
MEA	malt extrakt agar
PCR	polymerázová řetězová reakce
PH	pigmentované hyfomycety
SGA	Sabouraudův glukózový agar
SGA2	Sabouraudův glukózový agar s chloramfenikolem
SGA3	Sabouraudův glukózový agar s chloramfenikolem a cykloheximidinem
SLA	sladinový agar
SLA4	sladinový agar se 4° cukernatosti dle Balinga
SLA8	sladinový agar se 8° cukernatosti dle Balinga
TCH	trichoteceny
VM	vláknité mikromycety
WGS	celogenomová náhodná sekvenace
T	teleomorfa (sexuální stádium)
Z	zygomycety

7.2 SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obrázek 1:** Moucha infikovaná *Entomophthora muscae*
Obrázek 2: *Phycomyces nitens* na psím exkrementu
Obrázek 3: *Onygena corvina* na sovím vývržku
Obrázek 4: *T. Coprinopsis cinerea*
Obrázek 5a, b: A: *Hormographiella aspergillata*
Obrázek 6: Experimentální infekce morčete *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*
Obrázek 7: Spektrum mykobioty psa (dle Meason-Smith et al 2015)
Obrázek 8: Spektrum mikrobioty kočky (dle Meason-Smith et al. 2015)
Obrázek 9: Spektrum mykobioty člověka (dle Underhill et Iliev 2014)
Obrázek 10: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Trichophyton rubrum*
Obrázek 11: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Mucor circinelloides*
Obrázek 12: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Aspergillus niger*
Obrázek 13: Záznam hmotnostního spektra z MALDI TOF typické pro *Aspergillus fumigatus*
Obrázek 14: Domácnosti sdílené se psy (2018)
Obrázek 15: *A. elegans*; kolonie na SGA2 (po 24 h/25 °C)
Obrázek 16: *A. elegans*; větvení fertilního vzdušného mycelia na SLA4 (3 dny/25 °C)
Obrázek 17: *M. circinelloides* f. *lusitanicus*; kolonie na SGA2 (po 24 h/25 °C)
Obrázek 18: *M. circinelloides* f. *lusitanicus*; typické větvení (48 h/25 °C na SLA4)
Obrázek 19: *A. pullulans*; kolonie na SGA2 (po 5 dnech/25 °C)
Obrázek 20: *A. pullulans*; endokonidie a nezralé chlamydospory na SGA2 (5 dní/25 °C)
Obrázek 21: *B. bassiana*; kolonie na SGA2; pozitivní test entomopatogenity (10 dní/25 °C)
Obrázek 22: *B. bassiana*; konidiofor s fialidami na SGA2 (12 dní/25 °C)
Obrázek 23: *A. alternata*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)
Obrázek 24: *A. alternata*; pigmentované klíčící diktyokonidie na SGA2 (14 dní/25 °C)
Obrázek 25: *C. cladosporoides*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)
Obrázek 26: *C. cladosporoides*; konidiofory s pigmentovanými konidii na SGA2 (10 dní/25 °C)
Obrázek 27: *C. herbarum*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)
Obrázek 28: *C. herbarum*; konidie s fialidami a konidiofory na MEA (10 dní/25 °C)
Obrázek 29: *C. sphaerospermum*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)
Obrázek 30: *C. sphaerospermum*; konidie s fialidami a konidiofory na MEA (10 dní/25 °C)
Obrázek 31: *F. solani*; kolonie na SGA2 (7 dní/25 °C)
Obrázek 32: *F. solani*; chlamydospora, makrokonidie a mikrokonidie na PDA (15 dní/25 °C)
Obrázek 33: *A. candidus*; kolonie na SGA2 (10 dní/25 °C)
Obrázek 34: *A. candidus*; konidiofor s vezikulem, konidie na SGA2 (12 dní/25 °C)
Obrázek 35: *A. niger*; pigmentující kolonie na SGA2 (6 dní/25 °C)
Obrázek 36: *A. niger*; konidiofor s vezikulem na SGA2 (7 dní/25 °C)
Obrázek 37: *A. flavus*; pigmentující kolonie s hyalinními sklerocii na SGA2 (6 dní/25 °C)
Obrázek 38: *A. flavus*; konidiofor s vezikulem a konidii na SGA2 (7 dní/25 °C)
Obrázek 39: *M. canis*; pigmentující kolonie na SGA2 (20 dní/25 °C)
Obrázek 40: *M. canis*; nezralá makrokonidie na SGA2 (25 dní/25 °C)
Obrázek 41: *T. mentagrophytes* var. *granulosum*; pigmentující kolonie na SGA2 (22 dní/25 °C)
Obrázek 42: *T. mentagrophytes* var. *granulosum*; pyriformní mikrokonidie (25 dní/25 °C)

7.3 SEZNAM TABULEK

- Tabulka 1:** Klasifikace lékařsky významných hmyzomerek
Tabulka 2: Klasifikace lékařsky významných zygomycet
Tabulka 3: Klasifikace lékařsky významných vláknitých/dimorfních askomycet

Tabulka 4: Klasifikace lékařsky významných basidiomycet
Tabulka 5: Přehled nejčastějších toxigenních VM (dle Pitt et Hocking 2009)
Tabulka 6a: Druhové spektrum VM nosní sliznice chovatelů
Tabulka 6b: Druhové spektrum VM zvukovodu chovatelů
Tabulka 6c: Druhové spektrum VM podpaží chovatelů
Tabulka 6d: Druhové spektrum VM mezíprstí nohou chovatelů
Tabulka 6e: Druhové spektrum VM suspektních ložisek chovatelů
Tabulka 7a: Druhové spektrum VM nosní sliznice dm
Tabulka 7b: Druhové spektrum VM zvukovodu dm
Tabulka 7c: Druhové spektrum VM suspektních ložisek dm
Tabulka 8a: Druhové spektrum VM nosní sliznice nechovatelů
Tabulka 8c: Druhové spektrum VM podpaží nechovatelů
Tabulka 8c: Druhové spektrum VM podpaží nechovatelů
Tabulka 8d: Druhové spektrum VM mezíprstí nohou nechovatelů
Tabulka 9: Dotazník OPRS (dle Winefielda et al. 2008)
Tabulka 10: Frekvence domácností EU s DM (2018)

7.4 SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Kvantita mykobioty izolovaných hub z chovatele a DM (dle Wipler et al. 2018)
Graf 2: Soubor testovaných DM
Graf 3: Porovnání CI ke sledovaným DM
Graf 4: ATB terapie u chovatelů
Graf 5: ATB terapie u DM
Graf 6: ATB terapie u kontrolní skupiny
Graf 7: CI majitelů
Graf 8: Sdílené spektrum druhů VM v domácnostech
Graf 9: Sdílené druhy VM s prokázanou/neprokázanou zoopatogenitou
Graf 10: Zastoupení morfoskupin izolovaných VM u chovatelů
Graf 11: Zastoupení morfoskupin izolovaných VM u DM
Graf 12: Zastoupení morfoskupin izolovaných VM u nechovatelů
Graf 13: Počet druhů VM u sledovaných souborů v porovnání s uživateli ATB
Graf 14: Druhové zastoupení odběrových míst chovatelů
Graf 15: Druhové zastoupení odběrových míst DM
Graf 16: Druhové zastoupení odběrových míst kontrolní skupiny

7.5 SEZNAM SCHÉMAT

Schéma 1: MALDI TOF identifikace mikroorganismů (dle Clarc et al. 2013)
Schéma 2: Snímání vzorku laserovým paprskem
Schéma 3: Překrytí druhových spekter VM zvířat, jejich chovatelů a kontrolní skupiny

8. PŘÍLOHY

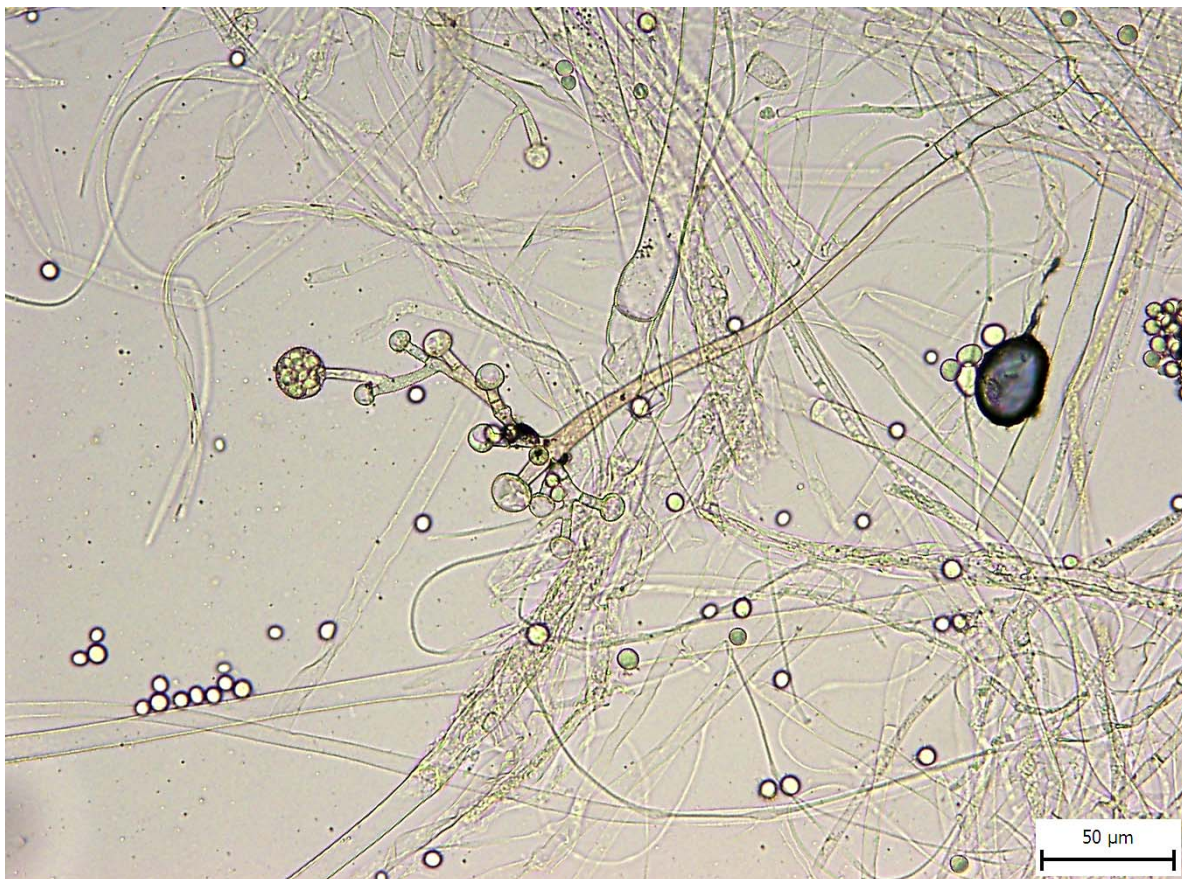
8.1 SDÍLENÉ LÉKAŘSKY VÝZNAMNÉ VM

Actinomucor elegans (Eidam) C.R. Benj. & Hesselt. 1957

Kolonie jsou bělavé (viz **Obr. 15**). Tato rychle rostoucí houba má dobře vyvinuté stolony i rhizoidy. Do 48 h na SLA4 dobře sporuluje (viz **Obr. 16**). Sporangiofory se tvoří na vzdušném i substrátovém myceliu. Typické je okoličnaté větvení. Hlavní a nejdelší je terminální sporangiofor a v krátké vzdálenosti pod ním vyrůstají postranní větve s menšími sporangii. Sporangia jsou světlá, globózní. Terminální sporangium má rozpustnou nebo vytrvalou stěnu, na povrchu hladkou nebo ostnitou. Sporangia na postranních větvích mají stěnu vždy vytrvalou a ostnitou. Kolumely mívají konický tvar s redukovanou apofýzou a zřetelným límečkem. Sporangiospory jsou na svém povrchu hladké či jen nepatrně drsné, tlustostěnné, hyalinní, globózní až subglobózní, 68 µm v průměru. Tento druh se vyskytuje typicky v půdě, ale i na exkrementech, tlejících rostlinách a také jako kontaminanta potravin. Komerčně se tato houba využívá při výrobě čínských sýrů (Kubátová et Váňová 2009). Z humánně lékařského hlediska byla popsána inazivní mukormykóza způsobená touto rychle rostoucí houbou u imunokompromitovaného pacienta s aplastickou anémií. Organismus byl izolován z nekrotické kožní léze na levé paži pacienta a prokázoval angioin vazivní rysy na histopatologickém vyšetření (Mahmud et al. 2012). Tato zygomyceta byla izolována i z tržné rány vážně zraněného vojáka. Případ skončil fatálně (Tully et al. 2009).



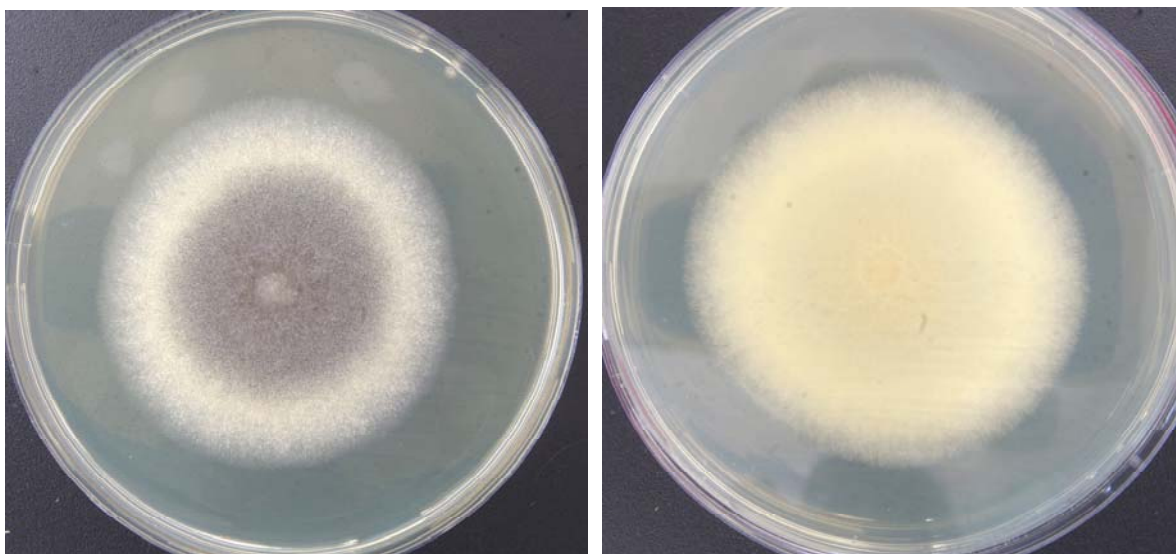
Obrázek 15: *A. elegans*; kolonie na SGA2 (po 24 h/25 °C)



Obrázek 16: *A. elegans*; větvení fertilního vzdušného mycelia na SLA4 (3dny/25 °C)

Mucor circinelloides f. lusitanicus (Bruderl.) Schipper 1976

Kolonie jsou zprvu bělavé a se sporulací nabývají šedé barvy (viz **Obr. 17**). Kolumely globózní nebo subglobózní s výrazným límečkem (viz **Obr. 18**). Jedná se o půdního saprotrofa jako všechny formy tohoto morfologicky rozmanitého druhu. Vyskytuje se na exkrementech živočichů a na tlejících zbytcích rostlin. Sporangiospory jsou nejčastěji elipsoidní, $5\text{--}6,3 \times 3,1\text{--}3,4 \mu\text{m}$ nebo široce elipsoidní. V substrátovém myceliu vznikají často chlamydospory. Je to heterothalický druh. Růstové optimum je při $15\text{--}30^\circ\text{C}$, dolní extrém při $5\text{--}10^\circ\text{C}$, horní extrém při 37°C (Kubátová et Váňová 2009). *M. circinelloides* se všemi formami je oportunní patogen u imunosuprimovaných pacientů, zejména příjemců transplantátů. V některých případech může kontaminovat rozsáhlá traumata i zdravých jedinců. Byl objeven nový příklad dimorfismu velikosti sporangiospor spojeného s virulencí. Některé kmeny *M. circinelloides f. lusitanicus* produkují větší sporangiospory, které jsou více virulentní ve srovnání s kmeny, které produkují menší méně virulentní sporangiospory (Li et al. 2011).



Obrázek 17: *M. circinelloides f. lusitanicus*; kolonie na SGA2 (po 24 h/25 °C)



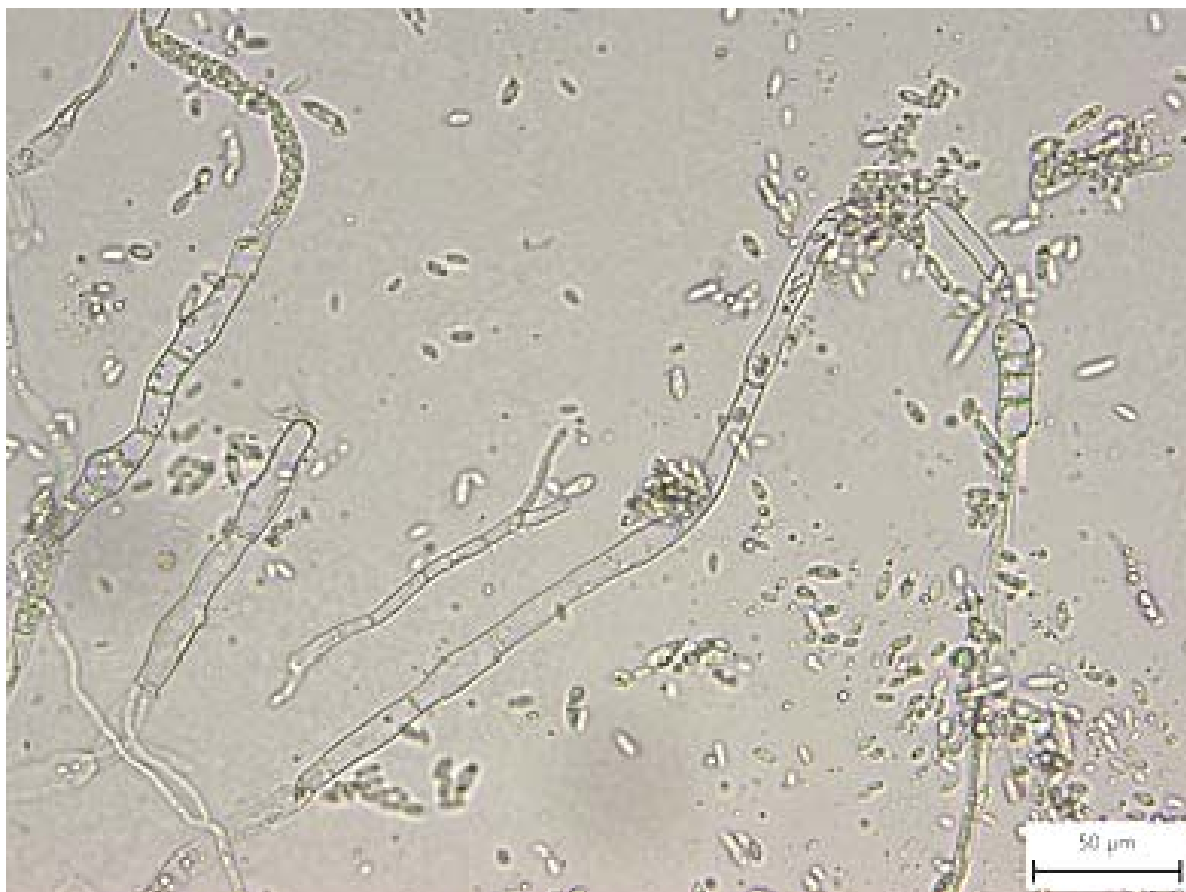
Obrázek 18: *M. circinelloides f. lusitanicus*; typické větvení (48 h/25 °C na SLA4)

Aureobasidium pullulans (de Bary et Löwenthal) G. Arnaud 1918

Kolonie jsou rychle rostoucí, hladké, krémové nebo růžové (viz **Obr. 19**), později hnědou nebo černají. Hyfy jsou hyalinní, septované, stárnutím pigmentují a tvoří řetízky jedno až dvoubuněčných, tlustostěnných, tmavě pigmentovaných chlamydospor. Konidie se tvoří jednak endogenně uvnitř hyfových buněk a jednak exogenně na nediferencovaných fialidách. Konidie jsou hyalinní, hladké, jednobuněčné, elipsoidní, ale s proměnlivým tvarem a velikostí ($8\text{--}12 \times 4\text{--}6 \mu\text{m}$), často s hilem (jizva v místě připojení) (viz. **Obr. 20**). Teplotní růstové optimum se pohybuje mezi 25 °C a 37 °C. *A. pullulans* má kosmopolitní výskyt. Většinou je izolován jako půdní saprofyt, občas je kultivován z klinického materiálu (kůže a nehty). Je ureáza pozitivní jako basidiomycetární kvasinky (Chumchalová et al. 2014). Rovněž byla hlášena jako vzácný původce mykotické keratitidy (Panda et al. 2006) a zánětu pobřišnice u pacientů na peritoneální dialýze (Ibañez Perez 1997).



Obrázek 19: *A.pullulans*; kolonie na SGA2 (po 5 dnech/25 °C)



Obrázek 20: *A. pullulans*; endokonidie a nezralé chlamydospory na SGA2 (5 dní/25 °C)

Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill. 1912

(T: *Cordyceps bassiana* Z.Z. Li, C.R. Li, B. Huang & M.Z. Fan 2001)

Kolonie jsou pomalu rostoucí, bělavé později s nažloutlým pigmentem (viz **Obr. 21**). Fialidy se zduřelou bází vyrůstají nejčastěji ve shlucích. Jejich velikost je $3-6 \times 2,5-3,5 \mu\text{m}$ a tenký zmijovitě klikatý krček (rachis) dlouhý až $25 \mu\text{m}$. Fialidy tedy proliferují sympodiálně (viz **Obr. 22**). Konidie hyalinní, téměř kulovité, hladké, $2-3 \mu\text{m}$ v průměru. U starších kultur se fialidy stávají protáhlejší a vyrůstají častěji i jednotlivě. Beauverie jsou všudypřítomné entomopatogeny, které jsou komerčně distribuovány jako biologické insekticidy po celém světě (Kubátová 2006). První zdokumentovaná infekce lidských tkání u pacienta léčeného imunosupresivou (Henke et al. 2002). Recidivující sinusitida způsobená *B. bassiana* byla zaznamenána u 44 leté ženy s akutní lymfoblastickou leukémií. Houba byla prokázána z tkáňové biopsie (Tucker et al. 2004).



Obrázek 21: *B. bassiana*; kolonie na SGA2; pozitivní test entomopatogenity (10 dní/25 °C)



Obrázek 22: *B. bassiana*; konidiofor s fialidami na SGA2 (12 dní/25 °C)

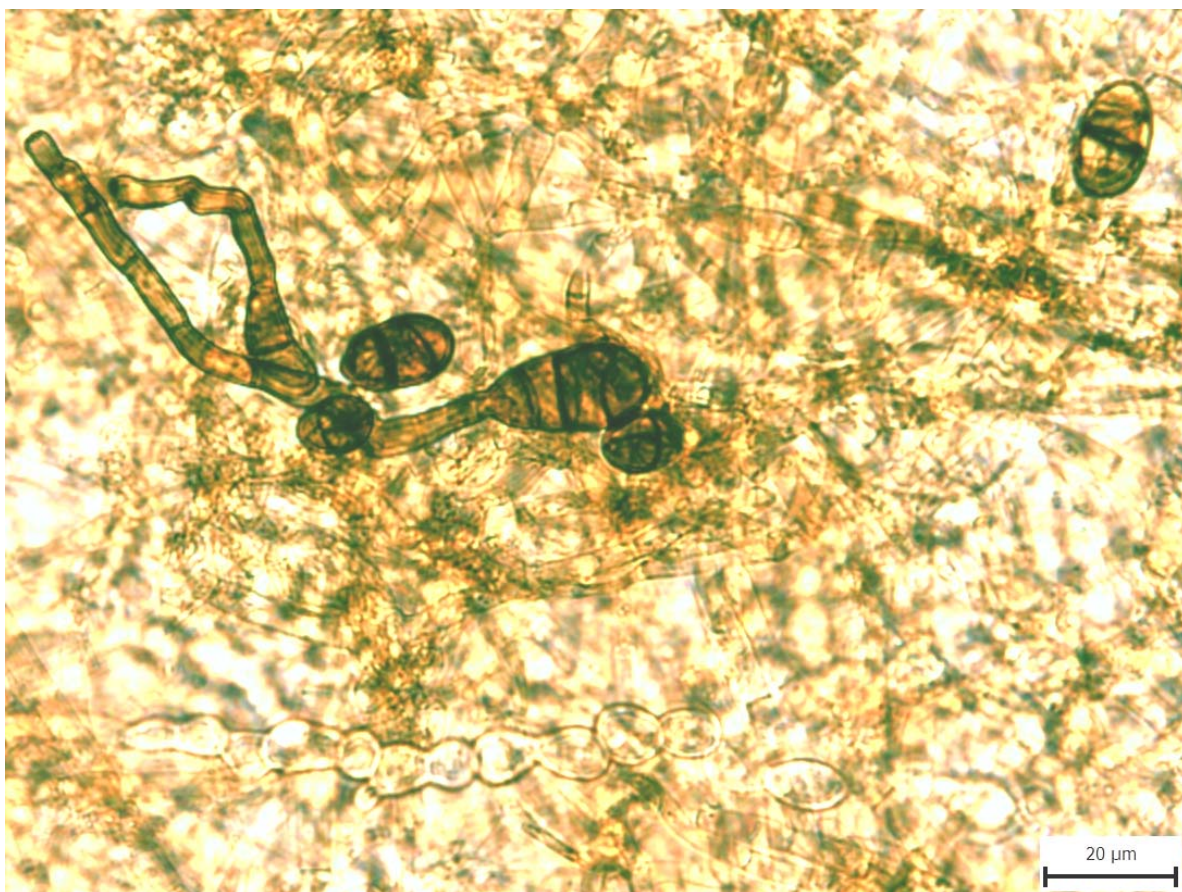
Alternaria alternata (Fr.) Keissl. 1912

Kolonie na SGA po 5 dnech při 25 °C mají 30–40 mm v průměru, sametové až jemně vlnaté, tmavě černoolivově zbarvené, u některých kmenů zpočátku šedobílé. Spodní strana béžová, od středu černající (viz. **Obr. 23**). Sporulaci indukuje expozice UV záření. Makrokonidie jsou tmavě pigmentované, vícebuněčné, s příčnými i podélnými přehrádkami (diktyokonidie), kyjovité nebo hruškovité, zužující se na vrcholu v krátký výběžek (viz. **Obr. 24**). Od rodu *Ulocladium* se liší v raném stádiu zaoblenými diktyokonidii v bazální části, navíc se tvoří v řetízku na konci hyf. Pro rod *Alternaria* je typická enteroblastická tretická konidiogeneze. Diktyokonidie jsou obvykle 20–40 × 8–12 µm velké, hladké nebo jemně bradavčité. Růstové optimum je v rozmezí 25–28 °C, min.-5, max. 36 °C (<https://mycology.adelaide.edu.au>). Má hojný kosmopolitní výskyt na různých substrátech rostlinného původu včetně potravin a krmiv, ale také v půdě. Může produkovat vysoce toxický metabolit AAT podobný fumonisinům, kyselinu tenuazonovou a mnoho jiných méně významných toxinů, např. kancerogeny altertoxin a alternariol (<http://www.phadia.com>).

Druh patří mezi oportunní patogeny. Infekce jsou častěji hlášeny u imunosuprimovaných hostitelů. Byl však zaznamenán případ kožní infekce u staršího muže, který byl zcela imunokompetentní (Gürcan et al. 2009).



Obrázek 23: *A. alternata*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)



Obrázek 24: *A. alternata*; pigmentované klíčící diktyokonidie na SGA2 (14 dní/25 °C)

Cladosporium cladosporioides (Fresen.) G.A. de Vries 1952

Kolonie jsou tmavě šedé, olivově žlutoolivové či olivově hnědé. Na spodní straně černozeleň pigmentující (viz **Obr. 25**) (de Hoog et al. 2000). Pro celý rod je typická enteroblastická tretická konidiogeneze a růst i pod bodem mrazu. Konidiofory bývají různě dlouhé, někdy až 350 μm , 2–6 μm široké, s terminálním a laterálním větvením, nesoucí větvené řetězce elipsoidních citronkovitých konidií. Konidie jsou hladké nebo lehce bradavičnaté, olivově hnědé, s tmavými jizvami (viz **Obr. 26**) (Bensch et al 2010). Jedná se o běžný saprotrfí druh přítomný v interiérech nevětraných prostor, ale i v exteriéru, a to o něco častěji než *C. herbarum*. Tento druh se nepříliš často podílí na plicních, kožních infekcích a infekci rohovky (de Hoog et al. 2000). Byl izolován také ze vzorků mozkomíšního moku a biopsie mozkové tkáně 30 letého pacienta bez získaného imunodeficitu (Kantarcioğlu et al. 2002).



Obrázek 25: *C. cladosporioides*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)

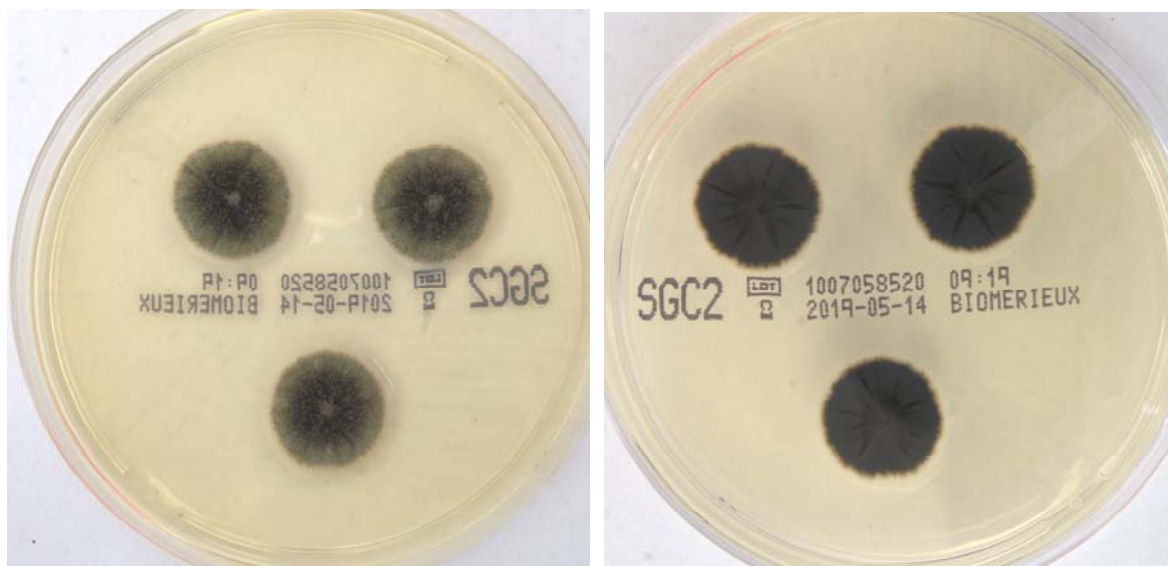


Obrázek 26: *C. cladosporioides*; konidiofory s pigmentovanými konidiemi na SGA2 (10 dní/25 °C)

Cladosporium herbarum (Pers.) Link 1816

(T: *Mycosphaerella tassiana* (De Not.) Johanson 1884)

Vykazuje pomalý růst a tmavé zbarvení kolonií včetně spodní strany. Po 7 dnech jsou sporulující kolonie sametové nebo plstnaté, tmavě olivově zelené. Spodní strana kolonií tmavě černozeleň až černá (viz **Obr. 27**). Konidiofory jsou řídce větvené, tmavě pigmentované. Řetízky konidií vyrůstající z koncových buněk konidioforů se při přípravě preparátu snadno rozpadají, na konidioforech jsou patrné jizvy po odpadnutí konidií. Konidie jsou elipsoidní až cylindrické, s drobnými výběžky, světle hnědozelené, bradavčité, $9\text{--}17 \times 5\text{--}6 \mu\text{m}$ velké (viz **Obr. 28**) (de Hoog et al. 2000). Optimální růst je zaznamenán v rozmezí $18\text{--}28^\circ\text{C}$, minimum -6°C , maximum 32°C . Teleomorfa se v kultuře netvoří. Vyskytuje se velmi hojně na celém světě na substrátech rostlinného i živočišného původu. Může způsobovat hniloby ovoce a zeleniny, může poškozovat i masné výrobky v chladicích boxech. Jeho konidie se vyskytují v létě a na podzim ve velkém množství v ovzduší. Produkce významných mykotoxinů nebyla dosud prokázána (Pitt et Hocking 2009). Tento byl dříve považován za nepatogenní, ale později byl zaznamenán případ, kdy se podílel na kožních a podkožních chromomykózách (Boudghène-Stambouli et Mérad-Boudia 1994).



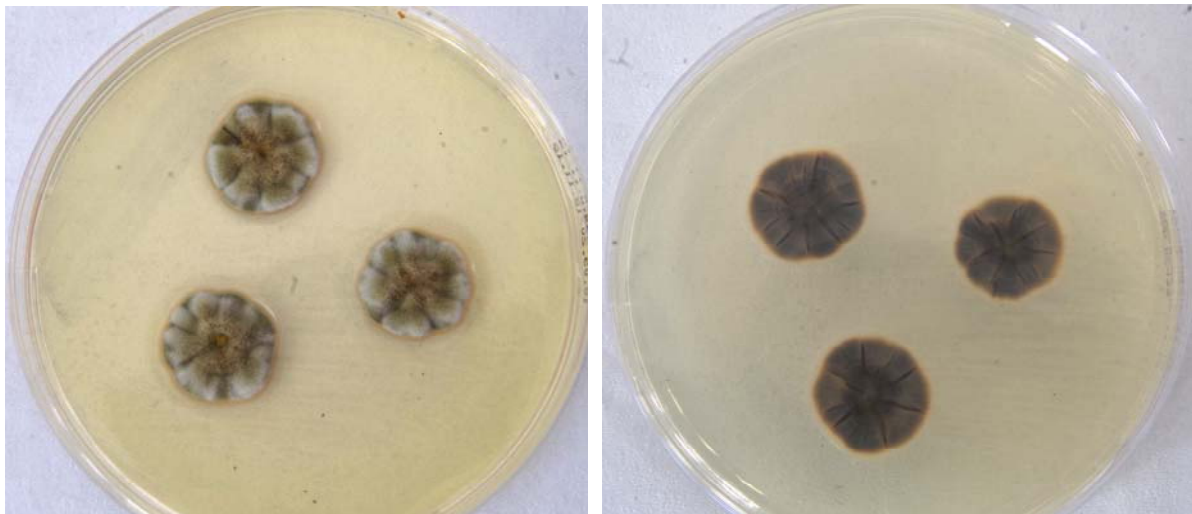
Obrázek 27: *C. herbarum*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)



Obrázek 28: *C. herbarum*; konidie s fialidami a konidiofory na MEA (10 dní/25 °C)

***Cladosporium sphaerospermum* Penz. 1882**

Tento druh pigmentovaných hyfomycet izoloval roku 1882 Albert Julius Otto Penzig z rozpadajících se listů a větví citrusů (Bensch et al. 2012). Hyfy jsou u některých izolátů olivově černohnědé, u jiných zase tmavozelené. Vždy mají silnou buněčnou stěnou a jsou septované. Kolonie rostou pomalu, ale sporulují už za 5–7 dní (viz **Obr. 29**). Většina cladosporií je psychrofilních. Také tento druh roste i při teplotě $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ s horním limitem $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Teplotní optimum je $24\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tento druh je halotolerantní. Konidie *in vitro* mohou klíčit při minimu 0,819 aw využitelnosti vody. Podobnou vlastnost využití vody má i *C. cladosporoides* (Hocking et al. 1994). Konidiofory se poměrně bohatě větví, jsou dlouhé až $150\text{--}300\text{ }\mu\text{m}$ a $3,5\text{--}4,0\text{ }\mu\text{m}$ široké. Na rozdíl od jiných druhů, konidiofory *C. sphaerospermum* postrádají združené nody v místech větvení. Konidie tohoto druhu jsou charakteristicky globózní až elipsoidní o průměru $3,4\text{--}4\text{ }\mu\text{m}$ (viz **Obr. 30**) (Zalar et al. 2007). Konidie se tvoří ve větvících se řetězcích, v nichž nejmladší je terminální. Tato vlastnost je typická pro celý komplex druhů *C. sphaerospermum* (Bensch et al. 2012). Je znám jako alergen. Jako patogen je vzácný. U imunokompromitovaných pacientů a u pacientů s cystickou fibrózou způsobuje onemocněním dýchacích cest a subkutánní feohyfomykózu s intrabronchiálními lézemi (Ng et al. 2012).



Obrázek 29: *C. sphaerospermum*; pigmentující kolonie na SGA2 (8 dní/25 °C)



Obrázek 30: *C. sphaerospermum*; konidie s fialidami a konidiofory na MEA (10 dní/25 °C)

Fusarium solani (Mart.) Sacc. 1881

(T: *Neocosmospora solani* (Mart.) L. Lombard & Crous 2015)

Mycelium roste rychle a zhruba po 6 dnech při 25 °C sporuluje. Je flokózní (vločkovité), šedobílé (viz **Obr. 31**). Spodní strana některých izolátů na PDA pigmentuje do zelena, či modrozelená. Mikrokonidie jsou protáhlé, se zaoblenými konci, cca $8\text{--}16 \times 2\text{--}4 \mu\text{m}$. Vznikají často na dlouhých vláknitých monofialidách. Makrokonidie se tvoří na bohatě větvených konidioforech srůstající v synemata. Mají vřetenovitý tvar, mírně zakřivené, se 3–5 septy, velikost je $27\text{--}52 \times 4,4\text{--}6,8 \mu\text{m}$, se zaoblenou terminální buňkou a nevýrazně stopkatou buňkou bazální. Chlamydospory jsou interkalární nebo terminální v řetízích (viz **Obr. 32**). Druh má kosmopolitní výskyt v půdě a je oportunním mykopatogenem širokého spektra živočichů i rostlin. Kontaminuje skladované potraviny. Produkuje kyselinu fusarovou a naftochinony (Kubátová 2006). Aspirace nebo přímý kontakt s konidii může způsobit rozvoj fusariózy. Klinická manifestace závisí na imunitě hostitele. Může být lokální, invazivní a poté disseminovaná. Lokální projevy infekce byly zaznamenány na kůži či rohovce, infekce však může invadovat do různých orgánů a disseminovaná forma se hematogenně šíří krevní cestou. U pacientů s hematologickými malignitami, u kterých se vyvinula neutropenie, byly zjištěny kožní léze způsobené tímto druhem. Vzhledem k smrtelnému průběhu infekce hrají dermatologové zásadní roli ve včasné diagnostice (Hayashida et al 2018).



Obrázek 31: *F. solani*; kolonie na SGA2 (7 dní/25 °C)



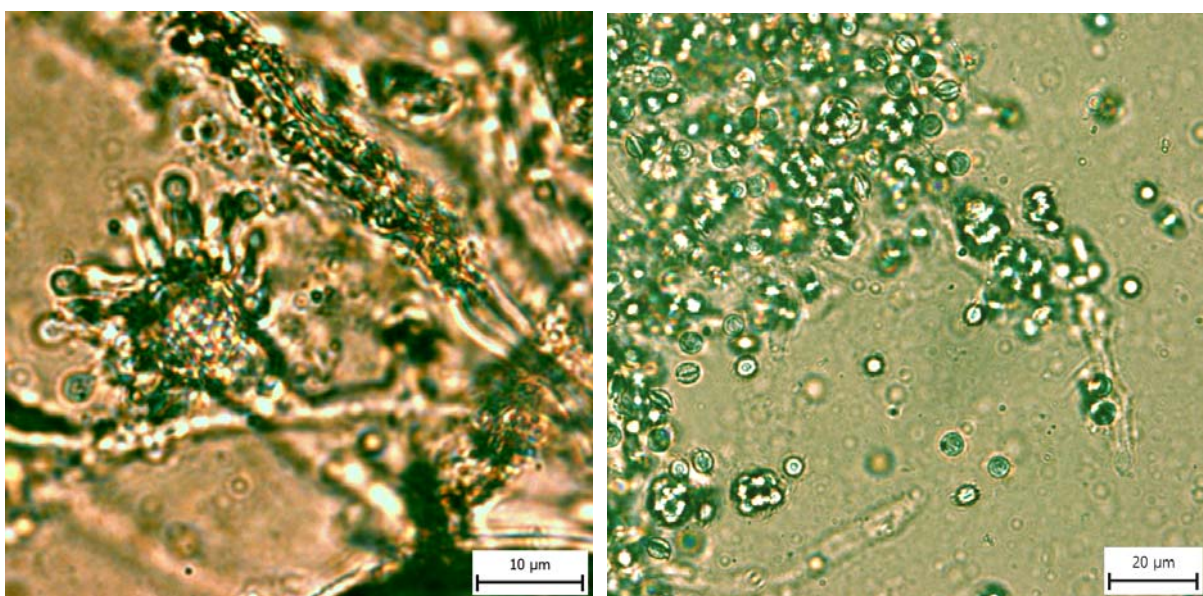
Obrázek 32: *F. solani*; chlamydospora, makrokonidie a mikrokonidie na PDA (15 dní/25 °C)

Aspergillus candidus Link 1809

Kolonie rostou pomalu. Na SGA vznikají po 5 dnech bělavé až krémové kolonie (viz **Obr. 33**). Konidiofory mají hladkou stopku a kulovitý vezikulus. Hladké konidie mají globózní či subglobózní tvar, hyalinní, s 2,6–3,8 µm v průměru (viz **Obr. 34**). Často je možné pozorovat i redukované avezikulární konidiofory připomínající rod *Penicillium*. Jedná se o častou kontaminantu skladovaného obilí v silech. Produkuje mykotoxin terphenyllin a xanthoascidin (Kubátová 2006). Kontaminuje nejrůznější skladované potraviny. Bývá někdy izolován jako původce nondermatofytních onychomýkóz, ale byl zaznamenán i případ invazivní plicní aspergilózy (Ribeiro et al. 2005).



Obrázek 33: *A. candidus*; kolonie na SGA2 (10 dní/25 °C)



Obrázek 34: *A. candidus*; konidiofor s vezikulem, konidie na SGA2 (12 dní/25 °C)

***Aspergillus niger* Tiegh. 1867**

Tento rychle rostoucí druh má černě pigmentované zralé konidiofory. Některé izoláty produkují do agaru (nejčastěji do MEA) žlutý pigment (viz **Obr. 35**). Hladké konidiofory jsou biseriální, s globózním měchýřkem. Metuly rostou kolmo ke konidiální hlavici podobně jako u následujícího druhu (viz **Obr. 36**). Konidie jsou globózní či subglobózní, černé, nepravidelně hrubě bradavčité, s průměrem asi 4,5 µm (Kubátová 2006). Jedná se o kosmopolitní druh, hlavně však v teplejších oblastech, nejvíce však na různých potravinách rostlinného i živočišného původu. Běžně je nalézán v černém čaji, při jehož fermentaci se uplaňuje. Z významných toxikologických vlastností byla zaznamenána produkce ochratoxinu A, avšak pouze u několika kmenů (Malíř et Ostrý 2003). *A. niger* je oportunní mykopatogen, který bývá identifikován jako původce chronické otomykózy. Běžně totiž bývá klinicky izolován v ušním mazu jako běžná součást mykoflóry. Při infekci se objevují erytémy, otalgie, svědění a šedý výtok ze zvukovodu (Mishra et al 2004). Infekce *Aspergillus niger* se někdy vyskytuje jako komplikace po orbitální exenteraci. Pokud se neléčí, může končit fatálně (Alvin So et Hardy 2012).



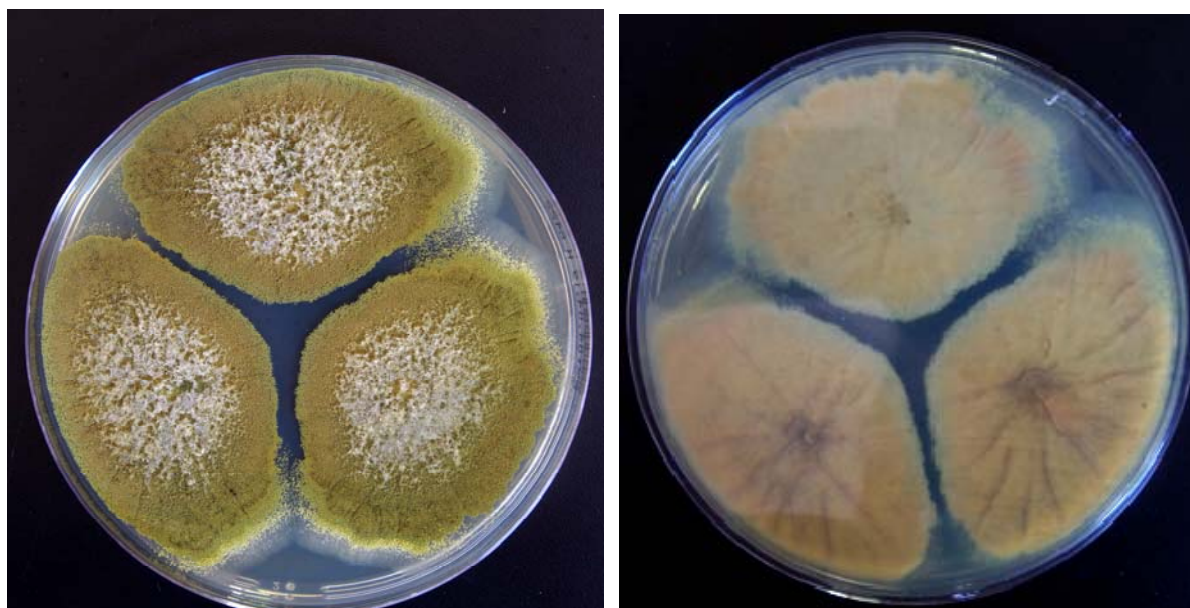
Obrázek 35: *A. niger*; pigmentující kolonie na SGA2 (6 dní/25 °C)



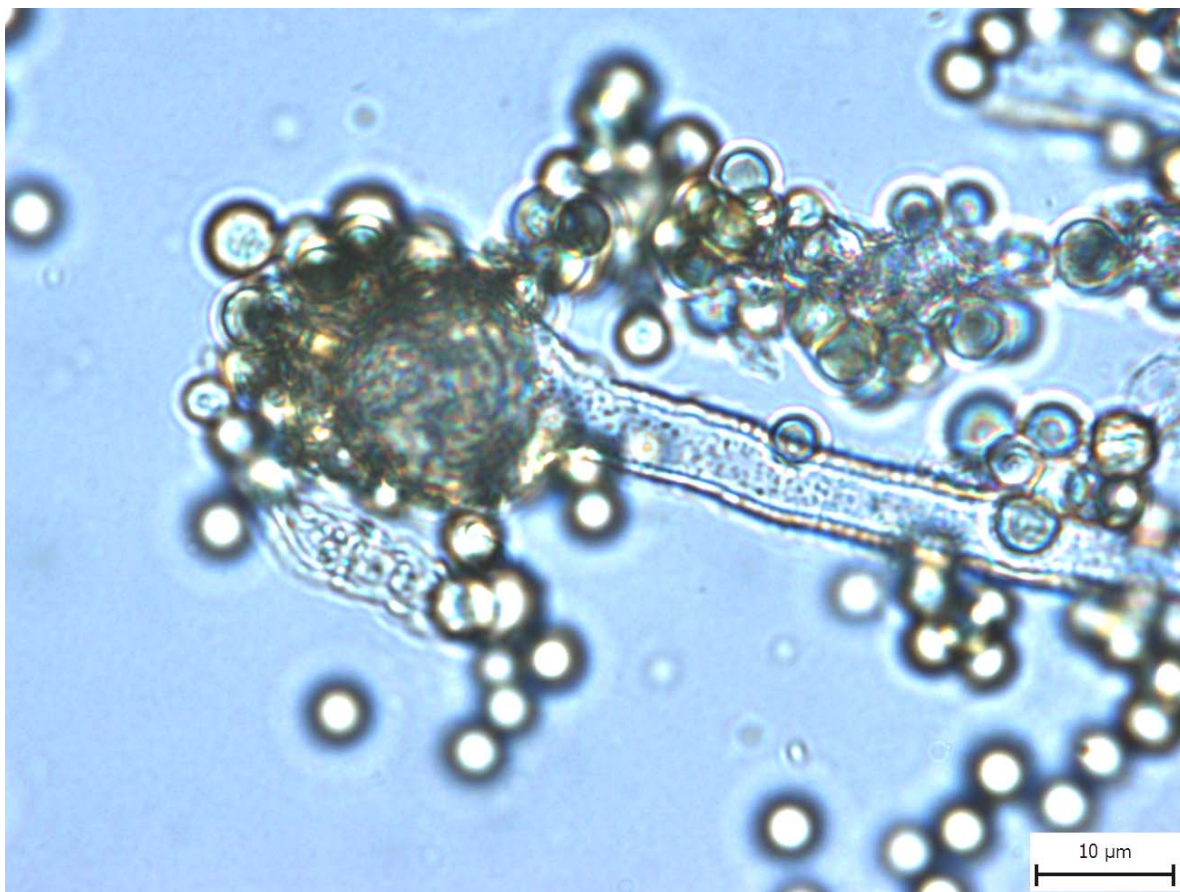
Obrázek 36: *A. niger*; konidiofor s vezikulem na SGA2 (7 dní/25 °C)

Aspergillus flavus Link 1809

Olivově zelené kolonie prostou při teplotním optimu rychle. Je schopen růst i při teplotě 48 °C. Na CYA běžně vytváří sklerocia, která jsou zprvu nahnědlá, pak tmavohnědá až černá (viz **Obr. 37**). Bradavčité konidiofory se tvoří s metulami (biseriální) nebo bez nich (uniseriální) v rámci jednoho kmene. Vezikuly jsou globózní nebo subglobózní. Konidie jsou rovněž globózní či subglobózní, bradavčité, s průměrem přibližně 3,5 µm (viz **Obr. 38**) (Kubátová 2006). Vyskytuje se velmi hojně v teplých oblastech mírného pásu. Je to půdní saprofyt často kontaminující lusky rostliny *Arachis hypogaea*. Také v našich podmínkách má častý výskyt na různých potravinách. Je to známý producent aflatoxinu B1 a kyselin aspergilové a cyklopiazonové (Malír et Ostrý 2003). Uplatňuje se také jako významný patogen a alergen. V některých oblastech v nemocničním prostředí je ve vzduchu běžnější než *A. fumigatus*, který je nejčastějším původcem invazivních aspergilóz. *A. flavus* je však nejčastější původce povrchových aspergilóz. Experimentální infekce myši prokázala, že *A. flavus* je až stonásobně virulentnější než *A. fumigatus*. Infekce *A. flavus* je spojena s chronickou granulomatózní sinusitidou, keratitidou, infekcemi pooperačních ran, osteomyelitidou po traumatu a inokulací konidiemi (Hedayati et al. 2007).



Obrázek 37: *A. flavus*; pigmentující kolonie s hyalinními sklerocii na SGA2 (6 dní/25 °C)



Obrázek 38: *A. flavus*; konidiofor s vezikulem a konidiemi na SGA2 (7 dní/25 °C)

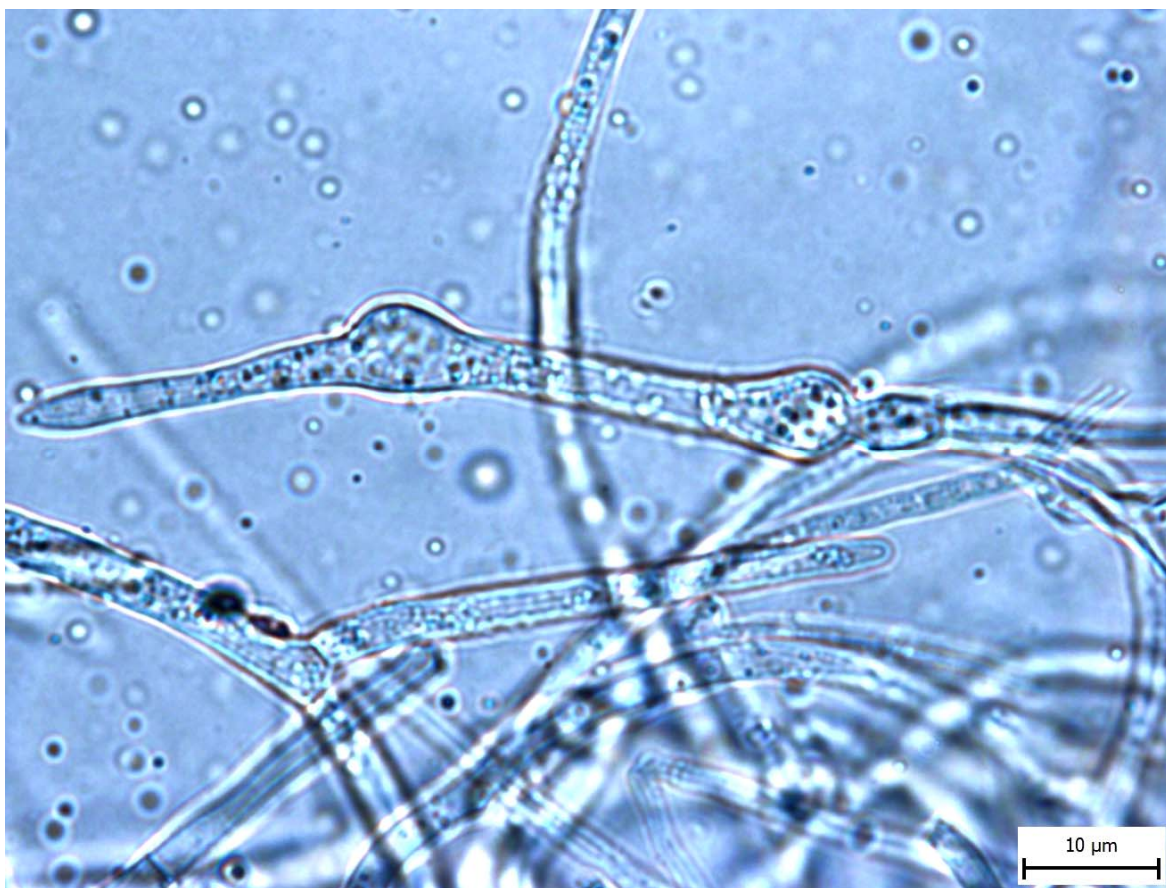
Microsporum canis E. Bodin ex Guég. 1902

(T: *Arthroderma otae* A. Haseg. & Usui 1975)

Oproti ostatním druhům dermatofyt rostou jeho kolonie poměrně rychle. Jsou vlnaté, bělavé. Substrátové mycelium na SGA žlutooranžově pigmentuje (viz. **Obr. 39**). Sporulující mycelium vytváří dva typy konidií. Makrokonidie s 5–11 septy jsou fusiformní. Vznikají holothalicky (viz **Obr. 40**) a zralé se uvolňují rhexolyticky (rozpuštěním hilu). Mají dlouhé polárními výběžky a tlustou buněčnou stěnou. Jsou na povrchu bradavčité, s velikostí $34\text{--}111 \times 12\text{--}25 \mu\text{m}$. Mikrokonidie jsou kyjovité až pyriformní, s hladkým povrchem. Tvoří se po stranách z nediferencované hyfy. Jde o kosmopolitně rozšířený půdní druh keratofilní houby (Kubátová 2006). *M. canis* je významným zoofilním mykopatogenem, způsobující kožní infekce koček, psů, opic aj. Transmise je častá i na člověka, zvláště děti. Způsobuje kožní onemocnění (tzv. tinea) destruuující epidermis i kožní keratinózní adnexa. Vykazuje jasnou světle zelenou fluorescenci osvitem napadených vlasů UV zářením za pomoci Woodovy lampy (Marples 1956). U savců způsobuje kožní onemocnění takzvanou prašivinu („ringworm“), při které je přítomna hyperkeratóza spojená se ztrátou vlasu (alopécií). Zoonotický přenos je možný ze všech hostitelských savců. U lidí je inkubační doba vzniku klasického klinického projevu 10–12 dní. Z hlediska humánní medicíny je významným přenašečem kočka domácí (Hermoso-de-Mendoza et al. 2010).



Obrázek 39: *M. canis*; pigmentující kolonie na SGA2 (20 dní/25 °C)



Obrázek 40: *M. canis*; nezralá makrokonidie na SGA2 (25 dní/25 °C)

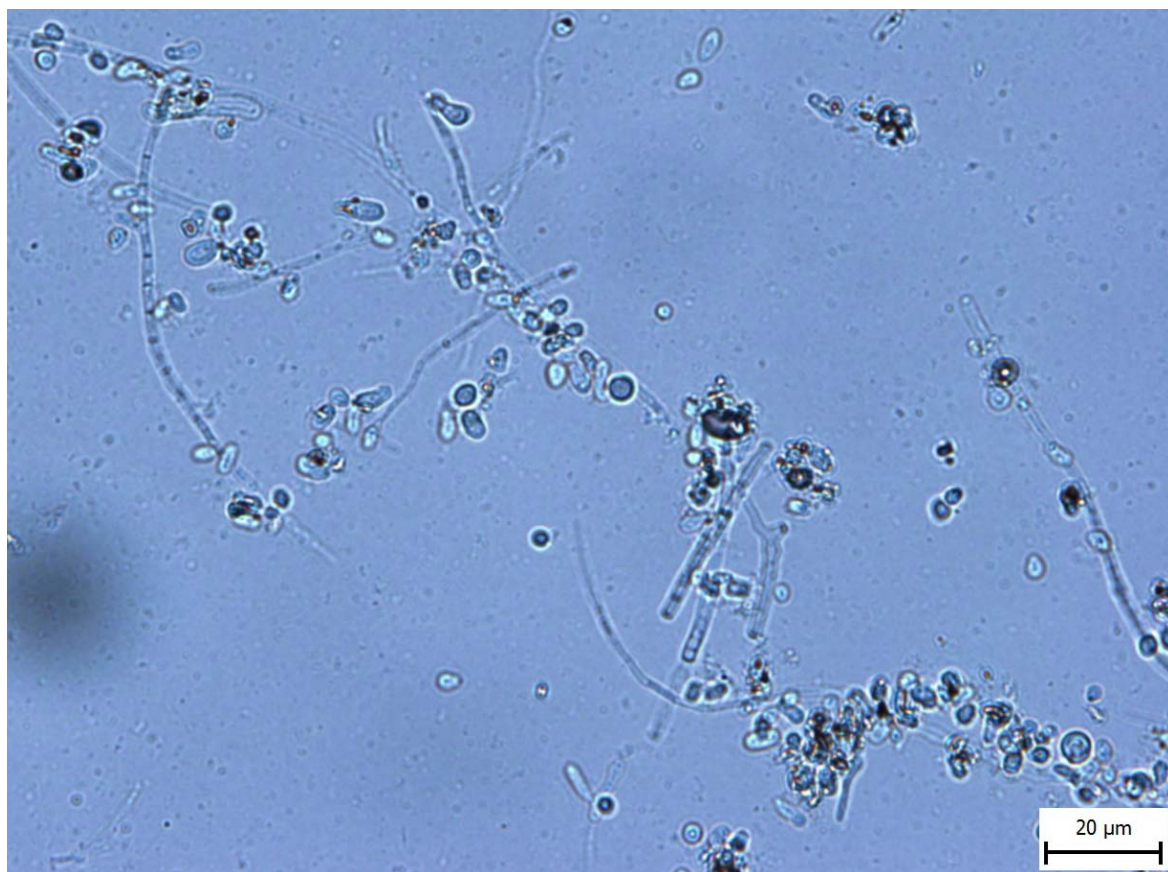
Trichophyton mentagrophytes var. granulosum (C.P. Robin) Sabour. 1895

(T: *Arthroderma vanbreuseghemii* Takashio 1973)

Kolonie jsou nejčastěji vyvýšené, ale také flokózní či vatovitě nadýchané, bílé až krémové barvy, s práškovým až granulovaným povrchem. U této variety je na SGA typická pigmentace do hnědočervena na spodní straně Petriho misky (viz **Obr. 41**). Vzniká mnoho jednobuněčných mikrokonidií, často v hustých shlucích. Mikrokonidie jsou hyalinní, hladce opuzdřené a pro tuto varietu je typický jejich pyriformní tvar (viz **Obr. 42**). Mají velikost $5,6\text{--}6,8 \times 2,8\text{--}3,2 \mu\text{m}$. Septované makrokonidie větvenovitěho tvaru se na SGA obvykle netvoří. Během 3–5 dnů má schopnost hydrolyzovat ureu (www.mycology.adelaide.edu.au)
Spolu s *M. canis* patří mezi dermatofyty s vysokou virulencí a kontagiozitou. Zoofilní dermatofytózy bývají zaznamenány převážně u mladších lidí. Méně často jsou přeneseny antropofilní druhy ze člověka na zvíře, kde působí kožní infekce. Zdrojem infekce jsou převážně kočky. Psi slouží jako rezervoár méně často. *T. mentagrophytes* patří k druhům dermatofyt, které mohou způsobovat také celkové příznaky infekce. Klasická symptomatologie je febrilie spojená s lymfadenopatií. Někdy dochází až k purulentním dermatózám a terapeuticky náročné formě „tinea capitis“ (Tietz et Hammerling 2007).



Obrázek 41: *T. mentagrophytes var. granulosum*; pigmentující kolonie na SGA2 (22 dní/25 °C)



Obrázek 42: *T. mentagrophytes* var. *granulosum*; pyriformní mikrokonidie (25 dní/25 °C)

8.2 Publikace k tématu A

PŮVODNÍ PRÁCE

Sdílení mikroflóry mezi majiteli a domácími mazlíčky (pes, kočka)

J. WIPLER¹, Z. ČERMÁKOVÁ¹, T. HANZÁLEK², H. HORÁKOVÁ², H. ŽEMLIČKOVÁ¹

¹Ústav klinické mikrobiologie, LF UK a FN Hradec Králové, ²Veterinární klinika Gayerovy kasárny, Hradec Králové

SOUHRN

Wipler J., Čermáková Z., Hanzálek T., Horáková H., Žemličková H.: Sdílení bakteriální mikroflóry mezi majiteli a domácími mazlíčky (pes, kočka)

Úvod: Mikrobiologický aspekt vztahu domácích zvířat psa/kočky a jejich majitele se zaměřuje na výskyt společných bakteriálních druhů, zejména potenciálních patogenů. Vzhledem k tomu, že sdílení domácnosti se psy a kočkami se v České republice těší velké oblibě, stoupá i pravděpodobnost komunikace mikrobiot obou makroorganismů (domácího mazlíčka a majitele). Cílem předkládané studie je zjistit na základě intimity vztahu člověka a domácího zvířete biodiverzitu sdílených bakterií s možností výměny genů rezistence k antibiotikům (ATB) mezi potenciálními patogeny.

Metodika: Od 20 párů (20 majitelů, 16 psů a 4 kočky) bylo odebráno 103 vzorků. Všichni majitelé vyplnili dotazník spolu s ošetřujícím veterinárním lékařem. U majitelů byl proveden výtěr z nosní dutiny, podpaží a z mezprstí na nohou. U zvířat byl odebrán vzorek z nosní sliznice a ze zevního zvukovodu. U jedinců s kožní lézí byl rovněž proveden odběr z postižené oblasti. Druhy bakterií byly určovány diagnostickými metodami a přístrojem Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI – TOF). U sdílených druhů byla testována citlivost k antibiotikům difúzní diskovou metodou. Na základě statistických metod byly hodnoceny stanovené hypotézy závislosti intimity vztahu sledovaných párů na množství sdílených bakteriálních druhů a závislosti předchozí ATB terapie na sdílené rezistenci u společných bakterií.

Výsledky: Analýzou získaných dotazníků bylo zjištěno, že 65 % majitelů, kteří se účastnili studie, chová doma více zvířat než jen to testované. 5 % zvířat a 5 % majitelů užívalo v předchozím roce antibiotika. V posteli se svým majitelem spí 45 % psů a koček a společně odpočívají na gauči může 80 % zvířat. Oblíbené si nechávají olizovat 45 % majitelů. 80 % zvířat je krmeno kombinací více druhů potravy (granule a vařená strava). 70 % zvířat žije trvale v domácnosti se svým pánem. Celkem bylo identifikováno 76 druhů bakterií ve 33 rodech. Nejčastěji izolovaným druhem (29 vzorků) byl *S. intermedius*. Nalezeno a určeno bylo 17 druhů bakterií, které se vyskytovaly jak u člověka, tak u sledovaných zvířat. Jeden společný druh sdílelo 9 párů a u 2 byly nalezeny dva společné druhy. Sdílené druhy: *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas putida* a *Staphylococcus aureus*. U společných bakteriálních druhů byla testována citlivost na ATB. U čtyř párů byla nalezena společná bakteriální rezistence. U jednoho páru sdílený *E. faecalis* vykazoval shodnou rezistenci ke sulfamethoxazol/trimethoprimu (co-trimoxazolu). U druhého páru byl *S. intermedius* rezistentní ke gentamycinu, erythromycinu, klindamycinu a co-trimoxazolu. Třetí nalezenou rezistentní bakterií byla *E. coli*. U jednoho páru vykazovala intermediární rezistenci vůči kolistinu, u druhého byla vůči tomuto ATB rezistentní. Ostatní páry se sdílenými bakteriemi neprokazovaly žádnou společnou rezistenci.

Závěr: Z výsledků předložené studie vyplývá, že existuje souvislost mezi úzkostí vztahu člověka a jeho zvířecího mazlíčka a výskytem společných bakteriálních druhů. Pravděpodobnost sdílení bakterií byla o 37,5 % vyšší u párů s blízkým vztahem než u párů s méně těsnou vazbou. Naše studie naznačuje, že léčba ATB alespoň u jednoho člena páru může zvýšit riziko výskytu společné bakteriální rezistence.

Klíčová slova: pes, kočka, chovatel, sdílená mikroflóra, přenos, bakteriální rezistence

SUMMARY

Wipler J., Čermáková Z., Hanzálek T., Horáková H., Žemličková H.: Sharing bacterial microbiota between owners and their pets (dogs, cats)

Introduction: The microbiological aspect of a relationship between pets (dogs/cats) and their owners is mainly concerned with the incidence of shared bacterial species, in particular potential pathogens. Given the great popularity of sharing homes with pets (dogs/cats) in the Czech Republic, there is an increased possibility of communication between microbiota of the two macroorganisms (pet and owner). The aim of the study was to determine the biodiversity of shared bacteria and possibility of exchange of genes of resistance to antimicrobial agents between potential pathogens based on the close relationship between pets and humans.

Methods: A total of 103 samples were collected from 20 pairs (20 owners, 16 dogs and 4 cats). All owners completed a questionnaire with their pets' veterinarians. In owners, swabs were collected from the nasal mucosa, armpit and interdigital spaces of the foot. In pets, swabs were obtained from the external auditory meatus and nasal mucosa. In individuals with skin lesions, samples were also collected from the affected areas. Bacterial species were identified by culture and matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. In shared species, susceptibility to antibiotics was tested by the disk diffusion method. Statistical methods were used to correlate the closeness of relationship with the number of shared bacterial species and to correlate previous antimicrobial therapy with shared resistance of the common bacteria.

Results: Analysis of the questionnaires showed that 65% of owners who participated in the study kept more pets at home than only the tested one. In the previous year, 5 % of pets and 5 % of owners received antimicrobial therapy. As many as 45 % of dogs or cats slept in their owners' beds and 80 % rested on a sofa together with their owners. Also, 45 % owners had their faces licked by pets. Eighty percent of pets were fed with several types of food (dry food and cooked food). Further, 70 % of pets lived permanently with their owners in the same household. A total of 76 bacterial species of 33 genera were identified. The most frequently isolated species (29 samples) was *S. intermedius*. Seventeen bacterial species occurring in both humans and animals were found and identified. At least one bacte-

rial species was shared by 11 pairs and two shared species were found in two pairs. The shared species were *S. intermedius*, *E. coli*, *E. faecalis*, *A. lwoffii*, *P. putida* and *S. aureus*. Antimicrobial susceptibility was tested in the shared species. Common antimicrobial resistance was found in four pairs. In one pair, shared *E. faecalis* showed identical resistance to co-trimoxazole; in another pair, *S. intermedius* was resistant to gentamycin, erythromycin, clindamycin and co-trimoxazole. The third resistant bacterial species was *E. coli*; in one pair, it showed borderline resistance to colistin; in the second case, it was fully resistant to this antimicrobial agent. The other pairs with shared bacteria did not show any common resistance.

Conclusion: The study results showed that there was an association between closeness of the human-pet relationship and the prevalence of shared bacterial species. Pairs with a close relationship were 37.5 % more likely to share bacteria than pairs with a less close relationship. The study suggests that antimicrobial therapy in at least one pair member may increase the risk of shared bacterial resistance.

Keywords: dog, cat, owner, shared microflora, transmission, bacterial resistance

Klin mikrobiol inf l k 2017;23(2):48–57

Adresa: MVDr. Zuzana  erm kov , Ph.D.,  stav klinick  mikrobiologie, LF UK a FN Hradec Králové, Sokolsk  581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: cermakovazuzana@email.cz

Do lo do redakce: 16. 11. 2016

Prijato k tisku: 10. 4. 2017

 vod

Domácí zvířata jsou j   desítky let nedílnou sou  st  mnoha domácností. Bakteriální kmeny b  n  mikroflóry z sk v j  rezistenci často při pou it  subletálních d vek ATB.  zk  kontakt vede k výměně mikroflóry mezi majitelem a mazlíčkem, a tím i ke genetick  komunikaci bakterií. Při imunodeficitu mohou získání rezistentní mutanty představovat v  n y zdravotní problém jak pro majitele, tak pro zvíře [1].

Johnson a kol. sledovali pacienty s infekcí močového ústrojí způsobenou *E. coli*, kteří sdíleli domácnost spolu se psy a/nebo kočkami. Z 228 vzorků mělo 17 % kmenů *E. coli* izolovaných ze stolice zvířat genetickou souvislost s extraintestinálními patogeny močového ústrojí  len  domácnosti [5].

N meck  studie zam řen  na rezistentní kmeny z čeledi Enterobacteriaceae a jejich molekul rn  charakterizaci zjistila, že kombinace subtypů genů v plazmidech kódující rezistenci k chinolonům (PMQR) a kódující roz  řen  spektrum betalaktamáz (ESBL) jsou lidmi i jejich zvířaty často sd leny. Izolovan  subtypy genů z lidí, domácích mazlíčků (pes, kočka) a kon  se aktivn  přenášejí a   j  se bakteriálními populacemi [10].

Pekingsk  studie antibiotick  rezistence *Pseudomonas aeruginosa* ukázala, že 6,7 % psů s pseudomon dovou infekcí bylo pozitivních na izoláty nesoucí geny rezistence proti 11 antibiotikům b  n  u iv n m proti této bakterii [7].

Přenos multirezistence koaguláza pozitivních stafylokoků byl zaznamenán u chovatel  ps . U 13 psů s hlubokou pyodermií způsobenou *S. intermedius*, u jejich 13 majitel  a kontrolní skupiny 13 osob bez kontaktu se psy byly provedeny kožní stěry. Ze 13 postižených ps  bylo získáno 90 kmenů. Z 6 pozitivních majitel  a jedn  osoby z kontrolní skupiny bylo izolováno 33 různých kmenů *S. intermedius*, u nichž byla prokázána pomocí elektroforézy v pulzním poli (PFGE) p itomnost genů rezistence k více n  5 r zn m

druh m ATB s genetickou souvislostí s psími kmeny. U 7 majitel  a 12 osob kontrolní skupiny nebyl *S. intermedius* prokázán [3].

S. intermedius se jako součást b  n  flóry člověka vyskytuje velmi vz cn . U lidí s každodenním kontaktem se psy a kočkami se však vyskytuje, což naznačuje, že kmeny tohoto stafylokoků izolovan  z lidí byly p vodn  přeneseny ze psů a koček, u kterých jsou součástí mikroflóry. Dosud je málo známo o možnostech výměny komenzálních bakterií mezi domácími zvířaty a člověkem, se kter m  j j  v úzkém kontaktu. Sou asn  studie se soust ed j  především na druh *S. intermedius* [3].

Materi al a metodika

Sběr vzorků od 20 p r  rob hal v období únor až říjen 2014. Studie se z  astn lo 16 majitel  se psy a 4 s kočkami během n v  tvy veterinárního lékaře. Vzorky ze zvířat byly odebrány lékaři z Veterinární kliniky Gayerovy kasárny Hradec Králové se souhlasem etick  komise i majitele zvířete. Získání vzorky společn  s vypln n m dotazníkem byly označeny identifikačním číslem páru (ID 1–20), bez  jména majitel  (anonymizováno). U všech ps  i koček byl proveden výtěr z nosní dutiny a vn    ho zvukovodu. U jedinců s kožní lézí byl odebrán také st r z postiženého m sta.

Výtěry od majitele byly získány z nosní dutiny, podpaží a mezipr st  na nohou a byly odebrány samotn m majitelem dle instrukcí veterinárního lékaře. Odb rov  m sta byla vybrána s ohledem na p irozen  se vyskytující bakterie, kteře by mohly být společn  pro oba sledovan  makroorganismy. Odběry byly provedeny pomocí odběrového systému Dispolab s transportním médiem a označeny.

V první části dotazníku byly získány demografick  údaje o majiteli – pohlaví, věk a charakteristika kontaktu majitele se zvířetem; chov více zvířat v domácnosti a p  padn  ATB

terapie majitele v posledních 12 měsících. Druhá část dotazníku identifikovala sledované zvíře: druh, rasa, pohlaví, věk, původ a životní styl (krmení, kde pobývá, kontakt s jinými zvířaty a ATB terapie v uplynulých 12 měsících). Poslední část vyplňoval veterinární lékař (datum, čas a lokalizaci odběru biologického materiálu).

Vzorky byly do 2 hodin po odběru dopraveny do Ústavu klinické mikrobiologie ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (ČKM FNHK). Primokultivace byly provedeny na krevní agar (KA) a na MacConkey agar (MCA) a inkubovány v termostatu při teplotě 35–37 °C po dobu 48 hodin. Narostlé kolonie byly izolovány na KA a identifikovány pomocí přístroje Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI – TOF).

Citlivost sdílených druhů bakterií byla testována difúzní diskovou metodou s antibiotiky zvolenými podle určeného druhu bakterie na Mueller-Hintonově agaru. Pro stanovení intimity vztahu majitele a zvířete jsme konstruovali tzv. Contact Index (CI) se stupnicí 0–8. V dotazníku jsou ozna-

čeny kontakty majitele se zvířetem (hlazení, olizování rukou, obličeje, sdílení postele atd.). Každá možnost byla ohodnocena 1 bodem, pouze odpověď „žádný kontakt“ má hodnotu 0. Contact Index je využit k vyhodnocení hypotéz. Hypotéza č. 1 se týká možné závislosti mezi hodnotou Contact Indexu a výskytem společných bakterií. Míra závislosti byla vyhodnocena podle Pearsonova korelačního koeficientu.

Výsledky

Od zvířat bylo získáno 43 vzorků, od majitelů 60. Celkem bylo kultivováno 103 vzorků. Všichni účastníci (100 %) žijí s vyšetřovaným zvířetem ve společné domácnosti. Výzkumu se účastnilo 60 % (12) žen a 40 % (8) mužů z 18 různých domácností, 3 účastníci patřili do jedné. Každý byl v páru s jiným ze zvířat. Počet domácností s více zvířaty je 11 (viz *tabulka 1*).

Tabulka 1
Zvířata chovaná v domácnosti

ID páru	Sledované zvíře			Další chovaná zvířata ve stejné domácnosti					Počet zvířat v domácnosti	Sdílená domácnost
	Druh	Věk	Pohlaví	Pes	Kočka	Agama vodní	Akvariijní rybka	Slepice		
1	pes	5	♂						1	ne
2	pes	8	♀	1					2	ano
3	pes	7	♂						1	ne
4	pes	3	♂			1			2	ano
5	pes	4	♀						1	ne
6	pes	2	♀		1				2	ano
7	pes	3	♀		4				5	ano
8	pes	5	♂	2					3	ano
9	pes	3	♂	2					3	ano
10	pes	3	♀						1	ne
11	pes	0,3	♀						1	ne
12	kočka	3	♀							
13	kočka	2	♀		6				7	ano
14	kočka	5	♀							
15	pes	2	♂						1	ne
16	pes	1	♂	1					2	ano
17	kočka	10	♀	1	3				5	ano
18	pes	7	♂				1		2	ano
19	pes	11	♂						1	ne
20	pes	9	♂		1			1	3	ano
Celkový počet				7	15	1	1	1	43	11

V dotaznících je uvedena ATB terapie majitelů či zvířat užívající v posledních 12 měsících (graf 1). V obou skupinách byl stejný počet uživatelů ATB – 5 osob a zvířat (25 %). Pouze u jedné dvojice byli ATB léčeni majitel i zvíře (pár č. 1).

Kontakt mezi majitelem a zvířetem je uveden v grafu 2. V možnosti „další“, kde mohl majitel popsat jiný druh kontaktu, který mu připadal podstatný, je např. chování v náručí a vylizování talíře. Všechny sledované páry měly mezi sebou alespoň minimální kontakt.

U všech koček a dvou psů byl nejasný původ, téměř 50 % psů mělo průkaz původu a pocházelo z chovné stanice, jeden pes byl z útulku. Většina majitelů (80 %) krmí svého psa/kočku kombinací různých typů stravy (granule, konzervy, vařená strava), 20 % zkrmuje samotné granule a 15 % navíc různé laskominy (sušené uši, kočičí tráva). Prostředí, kde se domácí zvíře pohybuje (viz graf 3), vypovídá mnohé o získání charakteristické bakteriální flóry.

V průběhu studie bylo analyzováno 103 výtěrů od majitelů a jejich zvířat. Identifikováno bylo celkem 33 rodů a 76 druhů bakterií. Nejčastěji byly zastoupeny rody *Staphylococcus*, *Pseudomonas* a *Bacillus* (8 druhů) a rody *Acinetobacter* a *Corynebacterium* (7 druhů). Nejvíce zastoupeným druhem byl *S. intermedius*, izolovaný z 29 vzorků (28 %), z nichž 22 (76 %) patřilo zvířatům. Byl nalezen u 80 % sledovaných zvířat a u 35 % majitelů, 5 párů jej sdílelo. *E. coli* a *S. aureus* byly izolovány z 25 vzorků (24 %). Obě tyto bakterie byly kultivovány u 75 % majitelů. *E. coli* byla sdílenou bakterií u 4 párů. *S. aureus* byl nalezen pouze u 1 psa a také u jeho majitelky. Třetím nejčastějším stafylokokem, nalezeným ovšem pouze u majitelů, byl *S. epidermidis* (22 vzorků, 21 %). *S. pseudointermedius* se vyskytoval u 14 (70 %) vyšetřovaných zvířat a u žádného majitele. *A. Iwoffii* byl v 90 % případů nalezen u zvířat, jeden pár jej sdílel. Hlavním předmětem studie byla sdílená mikroflóra a našli jsme celkem 17 společných druhů (graf 4).

Společné druhy bakterií sdílelo 11 párů, u dvou z nich byly přítomné dva společné druhy. V tabulce 2 je počet párů a jimi sdílené druhy bakterií.

U dvojic se společnými druhy byla testována citlivost bakterií vůči ATB. Výsledek testování je v tabulce 3.

U čtyř párů byla nalezena společná rezistence. Pes z páru č. 1 a jeho majitel, u nichž byly nalezeny dva společné druhy bakterií, vykazovali sdílenou rezistenci pouze pro *E. faecalis* vůči co-trimoxazolu (COT).

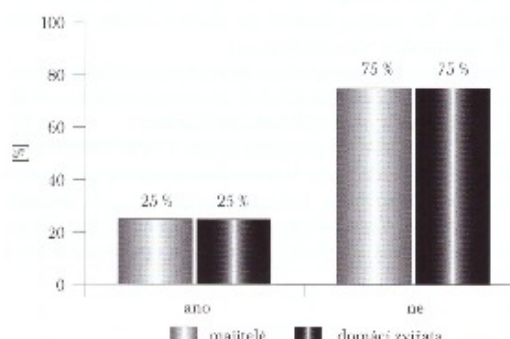
Pár č. 3 sdílel rezistenci *S. intermedius* ke gentamycinu (GEN), erythromycinu (ERY), clindamycinu (CLI) a co-trimoxazolu (COT).

Další nalezenu rezistentní bakterií byla *E. coli* vůči kolistinu (KOL). U páru č. 8 vykazovala tato bakterie hodnoty pro intermediární rezistenci, u páru č. 6 byla bakterie vůči tomuto ATB rezistentní.

Z nosní dutiny člověka bylo izolováno 20 druhů bakterií, nejčastěji *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *E. coli* (viz graf 5a). Z nosní dutiny sledovaných zvířat bylo získáno 27 druhů bakterií. Zjištěny byly *S. intermedius* a *S. pseudointermedius*. Dalším častým nálezem byl *A. Iwoffii*, ostatní druhy byly méně časté (graf 5b). Nosní dutina se ukázala být nejbohatším sledovaným mikrosystémem.

V podpaží majitelů byly nejčastěji nalezeny *S. epidermidis* (40 % majitelů) a *S. aureus* (40 %) a u 20 % se vyskytova-

Graf 1
ATB terapie u majitelů a jejich mazlíčků
za posledních 12 měsíců



Tabulka 2
Společné druhy bakterií pro oba jedince v páru

Společné druhy	Počet párů
<i>Staphylococcus intermedius</i>	5
<i>Escherichia coli</i>	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	1
<i>Pseudomonas putida</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1

Tabulka 3
Rezistence společných druhů bakterií vůči ATB

ID páru	Společný druh	Rezistence na antibiotika
1	<i>Staphylococcus intermedius</i>	žádná společná
	<i>Enterococcus faecalis</i>	COT
3	<i>Staphylococcus intermedius</i>	GEN, ERY, CLI, COT
	<i>Escherichia coli</i>	žádná společná
4	<i>Escherichia coli</i>	žádná společná
6	<i>Escherichia coli</i>	KOL
8	<i>Escherichia coli</i>	KOL (intermediární rezistence)
9	<i>Staphylococcus intermedius</i>	žádná společná
10	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	žádná společná
11	<i>Pseudomonas putida</i>	žádná společná
12	<i>Staphylococcus aureus</i>	žádná společná
15	<i>Staphylococcus intermedius</i>	žádná společná
17	<i>Staphylococcus intermedius</i>	žádná společná

ly *Corynebacterium minutissimum*, *Dermabacter hominis* a *Micrococcus luteus*.

S. epidermidis byl současně druhým nejčastějším nálezem (30 %) výtěrů z mezprstí nohou majitelů. *E. coli*, mělo 60 % majitelů. Se stejnou četností se objevily druhy *S. aureus* a *S. intermedius* (oba 20 %).

Výtěry z vnějšího zvukovodu domácích mazlíčků prokázaly přítomnost *S. intermedius* a *S. pseudintermedius* u 45 %, u 30 % se zde vyskytoval *Bacillus simplex*.

Stěr z kožní léze byl proveden pouze u tří ze sledovaných psů. Nalezeny zde byly *Achromobacter spanius*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Exiguobacterium* sp., *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. pseudintermedius* a *S. intermedius*. Pouze poslední uvedený stafylokok byl nalezen opakovaně u dvou stěrů.

Hypotéza 1

1H₀: Existuje závislost mezi hodnotou Contact Indexu a výskytem společných bakteriálních druhů u majitele a jeho mazlíčka.

1H_A: Výskyt společných bakteriálních druhů u majitele a jeho mazlíčka není závislý na hodnotě Contact Indexu

Hodnoty pro otestování hypotézy jedna jsou uvedeny v tabulce 4.

Korelační koeficient vychází kladně, korelace je tedy pozitivní. Hodnoty jsou vyšší než 0,6; jedná se tedy o silnou korelaci (graf 6).

Na základě zjištěných výsledků jsme došli k závěru, že korelace intimity vztahu (tedy hodnoty CI) a počtu společných bakteriálních druhů je možná.

Hypotéza 2

2H₀: Pravděpodobnost výskytu společných bakteriálních druhů bakterií (%) je vyšší u párů s Contact Indexem (CI) ≥ 4 než u párů, které mají Contact Index < 4 .

2H_A: Pravděpodobnost výskytu sdílených druhů bakterií (%) u párů s Contact Indexem ≥ 4 je stejná nebo nižší než u párů s Contact Indexem < 4 .

Výchozí hodnoty pro ověření hypotézy 2 jsou uvedeny v tabulce 5.

Lze předpokládat, že u skupiny majitelů s Contact Indexem ≥ 4 je možnost výskytu sdílených bakterií vyšší o 40,6 % než u skupiny s CI nižším.

Hypotéza 3

3H₀: Riziko společné rezistence sdíleného druhu bakterie k antibiotikům je vyšší u dvojic, kde alespoň jeden z páru prodělal ATB terapii v předchozích 12 měsících.

3H_A: Riziko společné rezistence sdíleného druhu bakterie k antibiotikům u dvojic, kde alespoň jeden z páru prodělal ATB terapii, je stejný nebo nižší než u párů bez antibiotecké léčby.

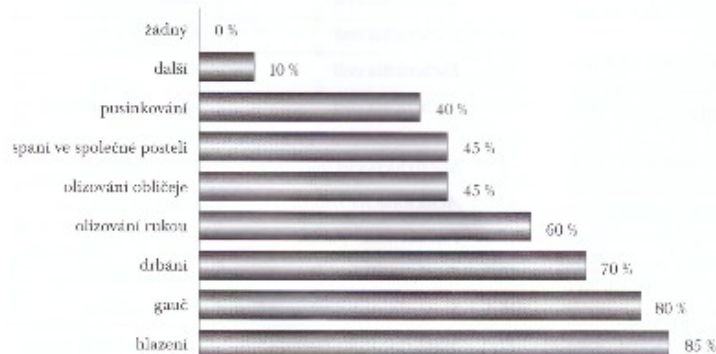
Výchozí hodnoty pro ověření hypotézy 3 jsou uvedeny v tabulkách 6a a 6b výsledky testování v grafech 7a a 7b.

Při testování této hypotézy bylo zjištěno, že u dvojic, kde alespoň jeden z páru užíval ATB, je vyšší riziko vzniku bakteriální rezistence. Toto riziko je vyšší o 60,7 % ve srovnání s páry, kde ATB terapie neproběhla. Tímto **nezamítáme hypotézu H₀**.

Diskuze

Zjištěné druhy bakterií převážně odpovídaly složení běžné mikrobioty člověka a zvířat. V nosní dutině majitelů převažovaly druhy *S. aureus* a *S. epidermidis*. Výtěr z nosní dutiny u 25 % majitelů prokázal také přítomnost bakterie *E. coli*. Mikrobiotou dutiny nosní se zabývali Srwa a kol. (2014). V komparativní studii autoři zkoumali mikrobiotu nosní dutiny u zdravých zaměstnanců cementárny a studen-

Graf 2
Kontakt mezi majitelem a jeho mazlíčkem



Graf 3
Prostředí domácích mazlíčků



tů univerzity v Koya (Irák), pouze u 20 % studentů se objevil *Staphylococcus* sp.; *E. coli* byla nalezena u necelých 6 % účastníků studie [12]. V porovnání s touto studií se u nás vyskytlo větší procento lidí, u kterých byla *E. coli* přítomna v nosní dutině. Možným vysvětlením by mohl být právě blízký vztah se psem či kočkou (např. olizování obličeje, polibky od majitele aj.). Tato bakterie je totiž u psů i koček velice častým obyvatelům nosní i ústní dutiny.

V nosní dutině sledovaných zvířat se také nejčastěji vyskytovaly stafylokoky. V tomto případě však šlo o druhy *S. intermedius* (60 %) a *S. pseudintermedius* (35 %). Nejčastěji identifikovaný *S. intermedius* je běžnou součástí mikroflóry psů, zejména pak na kůži a v ústní dutině. To potvrzují i Wang, Neilan, Klompas (2013). Dodávají také, že jsou zdokumentovány případy, kdy tato bakterie byla příčinou infekce u člověka [15]. Předpokládá se, že je to spíše vzácné, ale skutečný počet případů může být zkreslený kvůli možné záměně se *S. aureus*. U majitelů, kteří se účastnili studie, byl *S. intermedius* izolován u 35 %. Přítomnost této bakterie však ještě neznamená infekci, ale není vyloučen přenos genetické informace o rezistenci vůči antibiotikům na jiné druhy stafylokoků.

Druhým nejčastěji nalezeným druhem v nosní dutině psů a koček byl *S. pseudintermedius*. Walther a kol. (2012) uvádějí, že tento druh stafylokoků je velmi rozšířený u malých zvířat (jako jsou kočky a psi) a u člověka se vyskytuje jen ojediněle [14]. Tuto skutečnost můžeme potvrdit i v naší studii. Uvedený druh stafylokoků se nevyskytl u žádného majitele.

U dvou koček a jednoho psa byl identifikován druh *Pasteurella multocida*. Tato bakterie běžně kolonizuje ústní dutinu a nosohltan zvířat. Pro člověka představuje nebezpečí zejména při pokousání či poškrábání zvířetem. Greene (2011) udává, že touto bakterií je kontaminováno až 50 % ran po kočičím kousnutí, u psů je to o něco méně, asi 20–30 % [2].

Výsledky výtěrů z podpaží odpovídaly složení přirozené mikroflóry popisované v literatuře. Podle Tannocka (1995) se na kůži, zejména v horní polovině těla (tedy i v podpaží) nejčastěji vyskytuje *S. epidermidis* [13]. To odpovídá také našim výsledkům. Tento druh stafylokoků byl nalezen u 40 % majitelů. Dalším stafylokokem, který se zde může vyskytovat, byl *S. hominis*. Ten byl v našem případě izolován pouze u jednoho majitele. Dalším druhem, který je běžný v podpaží, je *M. luteus*, ten byl v této práci izolován u 20 % osob. Tannock (1995) uvádí i další běžné rody v axilární oblasti: *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Brevibacterium* [13]. Všechny tři rody byly v našich výsledcích zastoupeny, a to konkrétně těmito druhy: *Corynebacterium minutissimum*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium falsenii*, *Brevibacterium*

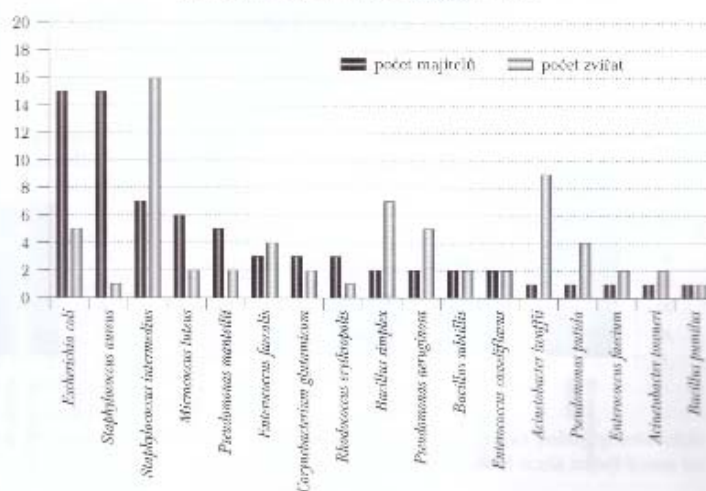
paucivorans. Velice zajímavý byl nález gramnegativní bakterie *Rhizobium radiobacter*. Ta se nachází převážně v půdě

Tabulka 4
Výchozí hodnoty pro výpočet Pearsonova koeficientu

ID páru	Počet společných druhů	Contact Index
1	2	6
2	0	3
3	2	6
4	1	5
5	0	4
6	1	6
7	0	6
8	1	7
9	1	6
10	1	3
11	1	6
12	1	5
13	0	4
14	0	4
15	1	5
16	0	3
17	1	3
18	0	2
19	0	1
20	0	2

Pearsonův korelační koeficient = 0,629

Graf 4
Nalezené druhy bakterií u člověka a zvířat



a je patogenní pro rostliny. Příležitostně však bývá spojována s oportunními infekcemi u člověka. Přesto, že četnost této bakterie je velice nízká a má také nízkou úroveň virulence, může být původcem bakteriémie a meningitidy u dlouhodobě imunokompromitovaných pacientů [9].

V meziprstí u člověka se vyskytovaly druhy typické pro kožní flóru – *S. epidermidis*, *S. aureus*. Nejčastější byl však nález *E. coli*, která je charakteristickým zástupcem zejména střevní mikroflóry. Lerner (2003) uvádí, že výskyt této bakterie na kůži by mohl být důsledkem zanedbané hygieny. Protože se tato bakterie vyskytla v meziprstí u 60 % majitelů, nezdá se příliš pravděpodobné, že by tak velké procento osob mělo problém s hygienou. Uvažujeme spíše o kontaminaci z půdy (některé odběry probíhaly v letním období, kdy se nosí otevřená obuv) či o spojitosti s chovem domácího mazlíčka [6].

V zevním zvukovodu sledovaných zvířat byly nejčastěji izolovány druhy *S. intermedius* a *S. pseudintermedius* (shodně 45 %). Oba tyto druhy jsou běžnou součástí mikroflóry zevního zvukovodu, kde mohou ale působit jako potenciální patogeny a při oslabení organismu vyvolat zánět

(otitis externa) [8]. Ojediněle byl zjištěn koaguláza-negativní *Staphylococcus xylosus*. Dále byl nalezen rod *Bacillus* (35 %), zastoupený druhy *B. simplex* a *B. subtilis*. U dvou koček byl nalezen druh *Corynebacterium felinum* a *C. glutamicum*. U jedné kočky a jednoho psa se vyskytla *P. aeruginosa*, která může způsobovat ušní záněty [4].

Kučerová (2009) sledovala ve své práci mikrobiální nálezy z výtěrů zevního zvukovodu u zdravých psů a koček a u jedinců s otitis externa. Ve výtěru zdravých psů byl nejčastěji prokázán rod *Bacillus*, který byl zastoupen u 34 % zvířat [18]. Tento výsledek je téměř totožný s naším (35 % zvířat). Námí nejčastěji zjištěný *S. intermedius* (45 %) byl v této studii identifikován jen u 11 % zvířat. *S. pseudintermedius* v jejich výsledcích nebyl popsán. Tento fakt si vysvětlujeme rozdílným způsobem identifikace.

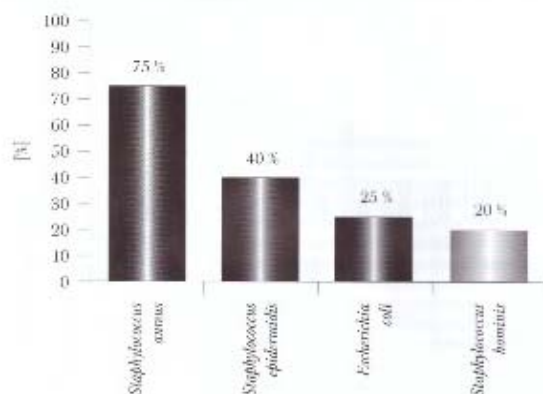
Některé bakterie nalezené v naší studii, např. *E. faecalis*, rod *Pseudomonas*, rod *Proteus*, gramnegativní tyčinky (*Acinetobacter*), prokázala Kučerová (2009) ve zvukovodu psů trpících otitis externa [18]. Je tedy možné, že i některé ze sledovaných zvířat mohlo mít tuto infekci v preklinickém stavu.

Tabulka 5
Výchozí hodnoty pro ověření hypotézy 2

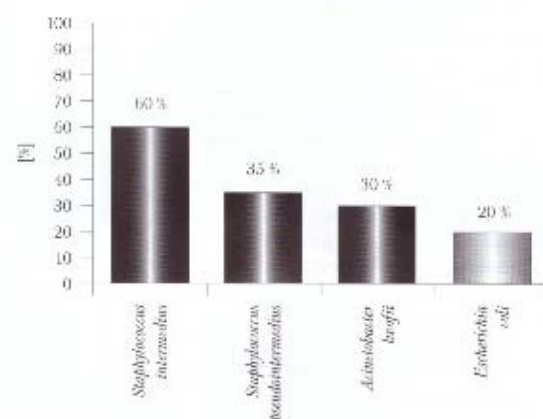
Páry s CI ≥ 4		Páry s CI < 4	
Sdílení bakteriálních druhů	9 (69,2 %)	Sdílení bakteriálních druhů	2 (28,6 %)
Bakteriální druhy nesdíleny	4 (30,8 %)	Bakteriální druhy nesdíleny	5 (71,4 %)
Celkem	13 (100 %)	Celkem	7 (100 %)

Výpočet pravděpodobnosti výskytu společných druhů: $69,2 \% - 28,6 \% = 40,6 \%$

Graf 5a
Nejčastější druhy nalezené v dutině nosní majitele



Graf 5b
Nejčastější druhy nalezené v dutině nosní domácího mazlíčka



Stejnou problematikou se zabývala také Lysková (2010). Zastoupení *S. intermedius* u zdravých zvířat zde bylo 22,4 %, u nemocných zvířat 52,1 % [17]. V naší studii zjištěné zastoupení tohoto druhu bylo 45 %. Spíše se tedy blíží výsledkům zjištěným u psů s ušní infekcí, nelze však objektivně bez odebrané anamnézy říci, zda mají tyto výsledky nějakou souvislost. Je možné, že přítomnost této bakterie jen zvyšuje pravděpodobnost vzniku infekce při oslabení imunity. *S. pseudintermedius* zde také nebyl zjištěn.

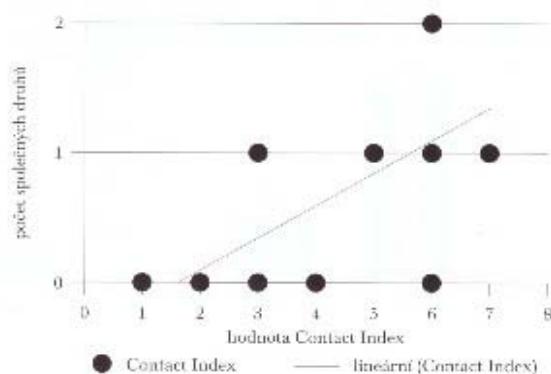
Součástí naší práce bylo rovněž zjistit, jak blízký vztah spolu mají sledované páry majitel a jeho zvíře s ohledem na získané výsledky. Chomel, Sun (2011) uvádí, že v USA až 56 % psů spí se svými majiteli v místnosti a 50 % z nich dokonce v jedné posteli. V našem výzkumu byl výsledek velmi podobný. Ve společné posteli se svým zvířetem spí 45 % majitelů. Ve Spojeném království probíhala anketa mezi 260 majiteli psů a 19 % z nich uvedlo, že spí se svým psem v ložnici, 14 % pak ve společné posteli. To je přibližně o 30 % méně než v našich výsledcích. U podobné studie v Holandsku prozradili majitelé zvířat, že až 60 % jejich domácích mazlíčků pravidelně navštěvuje jejich ložnici, 45 % psů a 62 % koček má dovoleno pobývat v posteli majitele, ale jen 30 % z nich v ní může se svým majitelem také spát. V této studii také zjistili, že až 50 % chovatelů si od svých zvířat nechává olizovat obličej. I tyto výsledky se téměř shodují s našimi výsledky. V dotazníku uvedlo 45 % osob, že jim jejich pes či kočka mohou olizovat obličej [1].

Walther a kol. (2012) ve své studii prováděli dotazníkové šetření, ve kterém byly zjišťovány podrobnosti o vztahu majitelů a jejich psů. Bylo zjištěno, že 68,5 % majitelů nechá svého psa ležet na pohovce. V naší studii to bylo o něco více. Na gauči může odpočívat až 85 % zvířat. Walther a kol. (2012) také dále uvádí, že ve společné posteli se svým párem může spát téměř 40 % psů. Ruce si nechá olizovat až 93,5 % majitelů. V porovnání s našimi výsledky je to výrazný rozdíl, v našem dotazníku tuto možnost označilo 60 % majitelů. Ve zmiňované studii si 52,8 % osob nechává od svého psa olizovat obličej [14].

V jedné z hypotéz jsme ověřovali, zda platí tvrzení, že čím blíží je vztah mezi majitelem a jeho mazlíčkem, tím větší je pravděpodobnost výskytu společných bakterií. Výsledkem testování byla středně silná korelace, tedy že existuje souvislost mezi blízkým vztahem člověka s domácím mazlíčkem a výskytem společných druhů bakterií. Skutečnost, že společné soužití člověka a zvířete vzájemně ovlivňuje složení jejich přirozené mikrobioty, potvrzují také Song a kol. (2013). Ti provedli porovnání složení mikrobioty kůže, jazyka a střev u 159 lidí a 36 psů u 60 rodin. Složení kožní mikrobioty prokázalo největší podobnost, a to nejen mezi lidskými členy rodiny, ale také mezi nimi a jejich psy, kteří s nimi bydleli ve společné domácnosti [11].

Walther a kol. (2012) sledovali pravděpodobnost přenosu potenciálně patogenních koaguláza-pozitivních stafylokoků mezi psy a jejich majiteli. Od 108 majitelů a jejich psů byly odebrány výtěry z nosní dutiny. U 20 osob (18,5 %) a dvou psů (1,8 %) byl zjištěn *S. aureus*. U 15 psů (13,9 %) a 6 majitelů (5,6 %) byl izolován *S. pseudintermedius*. Jeden kmen nalezený u člověka byl dokonce methicilin rezistentní (MRSP). Z celkového počtu 21 izolací tohoto druhu téměř polovina z nich (48 %) vykazovala rezistenci na více než

Graf 6
Silná korelace mezi hodnotou CI a počtem společných druhů



Tabulka 6a
Výchozí hodnoty pro ověření hypotézy 3

ID páru	Antibiotika	Rezistence
1	ANO	ANO
6	ANO	ANO
8	ANO	ANO
15	ANO	NE

Rezistence u párů s antibiotiky: 3

Tabulka 6b
Výchozí hodnoty pro ověření hypotézy 3

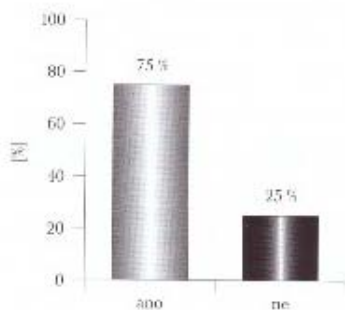
ID páru	Antibiotika	Rezistence
3	NE	ANO
4	NE	NE
9	NE	NE
10	NE	NE
11	NE	NE
12	NE	NE
17	NE	NE

Rezistence u párů bez antibiotik: 1

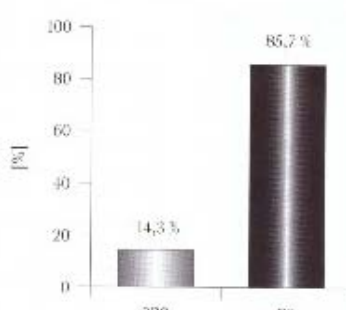
Výpočet rizika rezistence: $75\% - 14,3\% = 60,7\%$

jedno antibiotikum. Dále bylo pomocí pulzní gelové elektroforézy zjištěno, že jeden pár sdílel zcela stejný kmen tohoto stafylokoků [14].

Graf 7a
Srovnání četnosti rezistentních kmenů u párů po ATB terapii



Graf 7b
Srovnání četnosti rezistentních kmenů u párů bez ATB terapie



V naší studii byl *S. aureus* zachycen u 75 % osob a pouze u jedné kočky. Kromě nosní dutiny byl také prováděn výtěr z podpaží, kde představoval tento stafylokok 2. nejčastěji zachycený bakteriální druh. U zvířete pak byl zjištěn při výtěru z nosní dutiny. Tento druh byl společně sdílen jedním párem, u kterého nebyla zjištěna žádná společná rezistence vůči antibiotikům. *S. pseudintermedius* byl zjištěn u 70 % mazlíčků, ale u žádného majitele. Rezistence na antibiotika tudíž nebyla testována.

Autoři také zjišťovali, jak blízký kontakt spolu mají majitelé. Zjištěné výsledky poté porovnávali s výsledky výtěrů. Žádný typ kontaktu neshledali jako statisticky významný faktor pro kolonizaci druhem *S. pseudintermedius*. Zvýšené riziko však bylo u majitelů, kteří si nechali olizovat obličej, nechávali psa odpočívat na gauči a spát v posteli. V závěru studie uvádí, že přenos koaguláza-pozitivních stafylokoků mezi člověkem a zvířaty je možný, což prokázala i naše studie.

Další z testovaných hypotéz jsme ověřovali, zda existuje souvislost mezi užíváním antibiotik (alespoň u jednoho z páru) a rizikem společné rezistence. Došli jsme k závěru, že užívání antibiotik v předchozích 12 měsících zvyšuje pravděpodobnost rezistence až o 60 % ve srovnání s páry, kde ani jeden z dvojice antibiotika neužíval. Jsme si však vědomi skutečnosti, že pro statistické otestování této hypotézy, i pro celkové hodnocení výsledků, je počet sledovaných dvojic dosud malý.

Skutečnost, že užívání antibiotik a zejména jejich nadužívání či nesprávné použití je příčinou vzestupu antibiotické rezistence potvrzuje mimo jiné i Tisková zpráva SZÚ za rok 2013 [16]. Tento problém se netýká pouze humánní, ale také veterinární medicíny.

Z našich výsledků vyplývá, že lidé a jejich mazlíčci mohou sdílet společné druhy bakterií. Je možné, že mikrobiota pána a zvířete díky úzkému kontaktu geneticky komunikuje a dochází tak i k oboustrannému přenosu genů rezistence, která představuje jeden ze zásadních problémů dnešní medicíny. U sdílených rezistentních kmenů bakterií, především *E. coli* s rezistencí ke kolistinu, bude zapotřebí zjistit minimální inhibiční koncentraci (MIC), protože takové nálezy jsou vzácné, a vyžadují přesnější metody než jen difúzní diskovou metodu, která byla provedena opakovaně se stej-

ným výsledkem. Příbuznost izolátů společných druhů bakterií bude nutně definitivně potvrdit genotypizací některou z molekulárně biologických metod (např. gelovou elektroforézou v pulzním poli), což plánujeme v další fázi studie. Příklonnost stejného druhu u zvířete a člověka, zejména u bakterií, které se vyskytují u obou hostitelů běžně, ještě nemusí znamenat genetickou příbuznost ani v případě společné ATB rezistence.

Závěr

Pilotní studie sledovala menší vzorek populace. Jejím úkolem bylo prověřit metodiku, proveditelnost a možnost dalšího výzkumu. Protože byl ve statistické části práce testován menší rozsah souboru, nelze s naprostou jistotou rozhodnout, zda naše tvrzení platí. Lze však s určitostí říci, že studie poskytla zajímavé výsledky, které by bylo vhodné nadále rozšířit a zpracovat i proto, že Česká republika patří ke státům s největším počtem psů a koček v Evropě. V aplikované studii nadále pokračujeme. Výběr testovaných dvojic jsme vymezili jen na ty, v nichž alespoň jeden z páru užíval ATB terapii za posledních dvanáct měsíců.

Práce je podpořena finančními prostředky z:

1. SVV 260 398;
2. Vnitřní soutěž Lékařské fakulty v Hradci Králové UK v Praze, č. 84/25.

Literatura:

1. Chomel BB, Sun B. Zoonoses in the bedroom. *Emerg Infect Dis* 2011; 17(2):167–172.
2. Greene CB. Infectious diseases of the dog and cat. 4. vyd. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders, 2012; s. 1354.
3. Guardabassi L, Leiber ME, Jacobson A. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet Microbiol*. 2004;14(98(1)):23–27.
4. Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, CO Thoen. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 4. vyd. Iowa: Blackwell Publishing, 2010.
5. Johnson JR, Owens K, Gajewski A, Claborn C. *Escherichia coli* colonization patterns among human household members and pets, with attention to acute urinary tract infection. *J Infect Dis*. 2008;197(2):218–224.
6. Lerner K, Lerner BW. World of microbiology and immunology. Detroit: Gale, 2003. 2. vyd. ISBN 07876654282.
7. Lin D, Foley SL, Qi Y, Han J, Ji C, Li R, Wu C, Shen J, Wang Y. Characterization of antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections. *J Appl Microbiol*. 2013;113(1):16–23.
8. Matasovic K, Mekic S, Seel B. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats in Croatia during a six-month period. *Veterinarski arhiv*. 2012;85:505–517.
9. Mihajlova S, Genov N, Moore E. Susceptibility of Environmental Strains of *Rhizobium radiobacter* to Antimicrobial Agents. *World Applied Sciences Journal*. 2014; 5(5):859–862.
10. Schriegl J, Fulgenbauer L, Domann B, Baarschmid R, Prenger-Berninghoff E, Emrizzioglu C, Chakraborty T. Multiresistant extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiol*. 2014;14:187.
11. Song SI, Lischer C, Cosmelli EK, Lazopone CA, Humphrey G, Bengt-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakagishi S, Gordon JL, Piment N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *ELife*. 2013;2:4–16.
12. Srwa AM, Abdullatif WM, Awat SW, Dereh IM. A comparative study on detecting bacterial flora of the nasal cavity in normal healthy workers that work in ce-

- ment factory and the healthy Students in Koya University. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2014;9(4):7–15.
13. Tazmanck GW. Normal microflora: an introduction to microbes inhabiting the human body. 1. vyd. Londýn: Chapman, 1995.
 14. Walther B, Hermes J, Cury C, Wieler LH, Vincoz S, Alreu Elhaga Y, Stamm L, Kopp BA, Kohn R, Wirtz W, Jansen A, Comrade FJ, Schumler T, Eckmanns T, Lübbke-Becker A. Sharing More than Friendship – Nasal Colonization with Coagulase Positive Staphylococci (CPS) and Co-Habitation Aspects of Dogs and Their Owners. *PLoS ONE*. 2012;7(4):4–18.
 15. Wang N, Neilan AM, Klompas M. *Staphylococcus aureus* infections: case report and literature review. *Infectious Disease Reports*. 2013;22;5(1):3.
 16. SZÚ, MZČR. Letovní výsledky sledování antibioidické rezistence povrchů v zraněných trend: Tisková zpráva. *Státní zdravotní ústav* [online]. 2013. 1–4 [cit. 2014-08-31].
 17. http://ic.muni.cz/06389245pciL_p/Rigorozni_prace_final.pdf
 18. https://dspace.upce.cz/bitstream/handle/10195/33935/1/Kocerosova_P_Mikrobialni%20malezy_IM_2008.pdf

8.3 PUBLIKACE K TÉMATU B

PŮVODNÍ PRÁCE

Zvířecí mazlíček (pes, kočka) jako možný zdroj oportunně patogenních hub pro člověka

J. WIPLER¹, Z. ČERMÁKOVÁ¹, T. HANZÁLEK², H. HORÁKOVÁ², V. BUCHTA¹

¹Ústav klinické mikrobiologie, LF UK a FN Hradec Králové; ²Veterinární klinika, Gayetovy kasárny, Hradec Králové

SOUHRN

Wipler J., Čermáková Z., Hanzálek T., Horáková H., Buchta V.: Zvířecí mazlíček (pes, kočka) jako možný zdroj oportunně patogenních hub pro člověka

Úvod: Mikrobiologický aspekt vztahu domácích zvířat psa/kočky a jejich majitele se zaměřuje na výskyt společných druhů mikroskopických hub, zejména potenciálně patogenních. Sdílení domácnosti se psy a kočkami je v České republice velmi rozšířené, proto stoupá i pravděpodobnost komunikace mikrobiot obou makroorganismů (domácího mazlíčka a majitele). Cílem předkládané studie je zjistit na základě intimity vztahu člověka a domácího zvířete biodiverzitu sdílených hub i s ohledem na předchozí antibiotickou (ATB) terapii.

Metodika: Od 20 párů (20 majitelů, 16 psů a 4 kočky) bylo odebráno 103 vzorků. Všichni majitelé vyplnili dotazník spolu s ošetřujícím veterinárním lékařem. U majitelů byl proveden výtěr z nosní dutiny, podpaží a z meziprstí na nohou. U zvířat byl odebrán vzorek z nosní sliznice a ze zevního zvukovodu. U jedinců s kožní lézí byl rovněž proveden odběr z postižené oblasti. Druhy hub byly určovány kultivačními a mikroskopickými metodami a potvrzovány přístrojem Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI – TOF). Na základě statistických metod byly hodnoceny stanovené hypotézy závislosti množství sdílených druhů hub na intimitě vztahu sledovaných párů a vliv předchozí ATB terapie na množství společných druhů mikroskopických hub.

Výsledky: Analýzou získaných dotazníků bylo zjištěno, že 65 % majitelů, kteří se účastnili studie, chová doma více zvířat než jen to testované. 5 % zvířat a 5 % majitelů užívalo v předchozím roce ATB. V posteli se svým majitelem spí 45 % psů a koček a společně odpočívají na gauči může 80 % zvířat. Obličej si nechává olizovat 45 % majitelů, 80 % zvířat je krmeno kombinací více druhů potravy (granule a vařená strava). 70 % zvířat žije trvale v domácnosti se svým pánem. Celkem bylo izolováno 45 druhů mikroskopických hub, z nichž se 15 druhů vyskytuje u obou makroorganismů (zvíře i člověk). 32 druhů hub bylo identifikováno z lidských a 28 druhů ze zvířecích vzorků. Nejpočetnějším druhem je *Candida albicans*, izolovaná ze 30 vzorků. Mykologicky nejchudší se ukázaly vzorky z nosní sliznice člověka. Byly zde izolovány pouze 4 druhy. Druhově nejbohatší stěry u člověka byly z meziprstí nohou (26 druhů hub). Nejfrekvencovanějším zástupcem byla opět *C. albicans* v 8 případech. Druhově nejpočetnější vzorky od zvířat pocházely ze zvukovodu. Nejčastěji byla zastupována *Malessezia pachydermatidis* (17 případů). Celkem u 7 párů bylo zjištěno sdílení mikroskopických hub, z nichž 2 páry sdílely 2 druhy, 5 párů po jednom. Celkem bylo sdíleno 5 druhů hub, nejčastěji kvasinky *C. albicans* a *Geotrichum candidum*.

Závěr: Míra intimity vztahu majitele a domácího mazlíčka zřejmě nemá žádný vliv na početnost sdílených druhů mykoorganismů. Od majitelů, ale i z nosní sliznice domácích zvířat, byla nejčastěji izolována *C. albicans*. V materiálu ze zvukovodu a kožních šupin od psů a koček se nejčastěji vyskytovala lipofilní kvasinka *M. pachydermatidis*.

Klíčová slova: pes, kočka, zvířecí mazlíček, chovatel, sdílené mikroskopické houby, přenos

SUMMARY

Wipler J., Čermáková Z., Hanzálek T., Horáková H., Buchta V.: Pets (dogs/cats) as a possible source of opportunistic pathogenic fungi in humans

Introduction: The microbiological aspect of a relationship between pets (dogs/cats) and their owners is mainly concerned with the incidence of the shared fungal species that can be potential pathogens. Since sharing homes with pets is very popular in the Czech Republic, there is an increased possibility of communication between microbiota of the two macroorganisms (the pet and the owner). The aim of the study was to determine, based on the close relationship between pets and humans, the biodiversity of shared fungi, also with respect to previous antimicrobial therapy.

Methods: A total of 103 samples were collected from 20 pairs (20 owners, 16 dogs and 4 cats). All owners completed a questionnaire with their pets' veterinarians. In owners, swabs were collected from the nasal mucosa, armpit and interdigital spaces of the foot. In pets, swabs were obtained from the external auditory meatus and nasal mucosa. In individuals with skin lesions, samples were also collected from the affected areas. Fungal species were identified by culture and microscopy methods and confirmed by matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. Statistical methods were used to correlate the closeness of relationship with the number of shared fungal species and to correlate previous antimicrobial therapy with the number of shared species of microscopic fungi.

Results: Analysis of the questionnaire found that 65 % of owners who participated in the study kept more pets at home than only the tested one. In the previous year, 5 % of pets and 5 % of owners received antimicrobial therapy. As many as 45 % of dogs or cats slept in their owners' beds and 80 % rested on a sofa together with their owners. Also, 45 % of owners had their faces licked by pets. Eighty percent of pets were fed with several types of food (dry food and cooked food). Further, 70 % of pets lived permanently with their owners in the same household. A total of 45 microscopic fungi species were isolated, of which 15 species occurred in both macroorganisms (pets and humans). Thirty-two species were identified from human and 28 species from animal samples. The most frequent spe-

ries was the yeast *Candida albicans*, isolated from 30 samples. From the human nasal mucosa, only four species were isolated. The richest biodiversity was observed in interdigital space samples (26 fungal species). Once again, the most frequent fungal species was *C. albicans* (8 cases). The most numerous animal samples were obtained from the external auditory meatus. There, the most frequent species was *Malassezia pachydermatis* (17 cases). In seven pairs, microscopic fungi were shared. Of those, two pairs shared two species and five pairs shared one species. A total of five fungal species were shared, most often the yeasts *C. albicans* and *Geotrichum candidum*.

Conclusion: The closeness of the human pet relationship apparently does not influence the number of shared fungal species. The yeast *Candida albicans* was most frequently isolated from owners as well as from the nasal mucosa in pets. The lipophilic yeast *M. pachydermatis* most commonly occurred in the material from the external auditory meatus and skin scales from dogs and cats.

Keywords: dog, cat, pets, owner, shared micromycetes, transmission

Klin mikrobiol inf lek 2018;24(2):41–49

Adresa: MVDr. Zuzana Čermáková, Ph. D., Ústav klinické mikrobiologie, LF UK a FN Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: cermakovazuzana@email.cz

Došlo do redakce: 2. 3. 2018

Přijato k tisku: 4. 7. 2018

Úvod

Zvířecí mazlíčci jsou již desítky let nedílnou součástí mnoha domácností. Úzký kontakt s člověkem vede k výměně mikrobioty. Při dlouhodobém narušování ekologické rovnováhy mezi bakteriální a mykotickou mikrobiotou ve prospěch hub mohou oportunně patogenní mykoorganismy představovat zdravotní problém pro majitele i pro zvíře [1]. Houbové infekce jsou vzácné, ale v poslední době jsou na vzestupu především u pacientů s imunodeficiencí [2,3]. Ve studii uvádíme názvy imperfektních stadií, ačkoli to není v souladu s recentní taxonomickou nomenklaturou. Je tím v mnoha druhů přesněji vyjádřena nalezená růstová forma z klinického materiálu. V lékařské mykologii jsou názvy anamorfy zcela zažit, neboť drtivá většina lékařsky významných patogenů je až na výjimky v imperfektním stadiu. Jako oportunní patogeny se uplatňují různé druhy kvasinkovitých i vláknitých hub [4]. Zástupci kvasinek rodu *Candida* jsou významnými původci endogenních infekcí u člověka, zejména *Candida albicans* a komplex druhů non-albicans (*C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata* a *C. parapsilosis*). Kandidy jsou přítomny u zdravého člověka běžně v ústní dutině a ve stolici [5].

Kandidám příbuzná je *Yarrowia lipolytica*. Izoluje se ze substrátů obsahujících proteiny, nebo tuky, např. z mléčných výrobků. Vyznačuje se schopností asimilovat hydrofobní sloučeniny, včetně n-alkanů a mastných kyselin [6]. *Y. lipolytica* byla izolována z krve dospělých jedinců i dětí při fungémii, prokázalo se rovněž, že způsobuje orální infekce [7]. Tento kosmopolitně rozšířený druh byl izolován i z dýchací soustavy a střeva, kde působí jako patogen [8].

Geotrichum candidum a *G. capitatum* jsou kvasinkové organismy, vyvolávající oportunní onemocnění, geotrichózu [9]. Druhy rodu *Trichosporon* jsou nefermentující kvasinky běžně izolované z půdy. Způsobují oportunní infekce u imunokompromitovaných hostitelů [10].

Lipofilní kvasinka *Malassezia furfur*, která je obvykle součástí normální lidské kožní mikrobioty, může také půso-

bit kožní infekce, zejména pityriasis versicolor a zhoršení klinického obrazu dermatitis seborrhoica [11]. Na kůži domácích mazlíčků ji pak nahrazuje *M. pachydermatis*, která se jako patogen uplatňuje častěji. Je rovněž nalézána v jejich zvukovodu, kde může způsobovat onemocnění otitis externa [12,13]. Oba druhy jsou schopny vyvolat i fungémii u novorozenců [14,15]. Vzhledem ke schopnosti přežívat ve vnějších podmínkách, zvláště v prostředí bohatém na lipidy, se mohou přenášet mezi člověkem a domácími zvířaty oboustranně a infikovat rizikové pacienty [16]. Kvasinky *M. pachydermatis* a *C. parapsilosis* jsou často izolovány v případě seborrhoické dermatitidy psů a také se objevují jako oportunní patogeny imunokompromitovaných lidí. Britská studie popisuje kooperaci těchto dvou druhů kvasinek v tvorbě biofilmu u kožních infekcí psů. Prokázali, že bez ohledu na kmeny tyto smíšené kultury začaly vytvářet biofilm do 24 hodin a jeho největší množství bylo přítomno po 72 hodinách. Smíšené kultury vytvořily pevnější biofilmy než jednotlivé druhy. U těchto biofilmů byla zaznamenána rezistence k itraconazolu a ketokonazolu na rozdíl od planktonických forem. Zvyšuje se tak perzistence kožních lézí u psů a odolnost vůči fungicidnímu ošetření [17]. Rod *Cryptococcus* je nefermentující ureáza pozitivní kvasinka. Oportunně patogenní druhy jsou *C. neoformans* a *C. gatti*. U rizikových skupin lidských i zvířecích pacientů způsobují závažné exogenní infekce, neboť mají afinitu k CNS [18,19]. Japonská studie zjistila u kočky kryptokokózu, způsobenou *C. neoformans* var. *grubi* rezistentní k flukonazolu, který je lékem volby u humánních i animálních infekcí. Rezistence k ostatním azolovým antimykotikům a k amfotericinu B u tohoto kmene zatím nebyla prokázána [20].

Anamorfní vláknité houby rodu *Aspergillus* vyvolávají aspergilózu, postihující člověka i domácí zvířata. K onemocnění jsou náchylnější osoby s imunodeficiencí, kdy k infekci stačí i malé množství inhalovaných konidií [21]. Při invazivních aspergilózách jsou vstupní branou infekce převážně plíce. Aspergilózu mohou u člověka vyvolat druhy

A. fumigatus, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans* a *A. niger* [22,23]. Invazivní aspergilóza se téměř výhradně vyskytuje u imunoprimovaných pacientů. Může postihovat všechny lidské orgány a obvykle se diagnostikuje post mortem [24,22]. Zygomycety jsou vláknité houby s většinou coenocytickým myceliem. Jsou to saprofyty či saproparazité rychle prorůstající substráty bohaté na sacharidy. U somaticky či imunitně oslabených savců jsou původci oportunních infekcí, zygomykóz. Člověk se může nejčastěji infikovat vdechnutím spor. Velmi rychle mohou prorůst tkání do lumen cév a způsobit jejich obstrukci a následnou rupturu. Systémové zygomykózy se nejčastěji diagnostikují post mortem [23,26]. V Roth Island v USA byl zaznamenán případ kožní smíšené infekce *Enterobacter cloacae* a *Mucor* sp., která se po kousnutí psem vyvinula u 50leté diabetičky léčené amoxicilinem. Rána byla úspěšně léčena kombinací karbapenemových ATB a lipozomálního amfotericinu B [27].

Dermatofyty jsou půdní houby se schopností enzymaticky degradovat keratin. Mohou růst kdekoli na svrchních vrstvách epidermis a kožních adnexech, kde vyvolávají lokální patologické změny. Preference hostitele je u jednotlivých dermatofytů odlišná, některé druhy jsou spíše zoofilní, jiné zase antropofilní, a jsou záznamy i o oboustranném přenosu [28]. Švýcarská studie řešila lokální epidemii dermatomykózy studentů veterinární školy a koně. Sekvenace DNA a fenotypová charakteristika prokázaly shodný kmen houby u ošetřovatelů i zvířete. Zdrojem původce *Trichophyton mentagrophytes* (teleomorfa *Arthroderma vanbreuseghemii*) byl kůň [29].

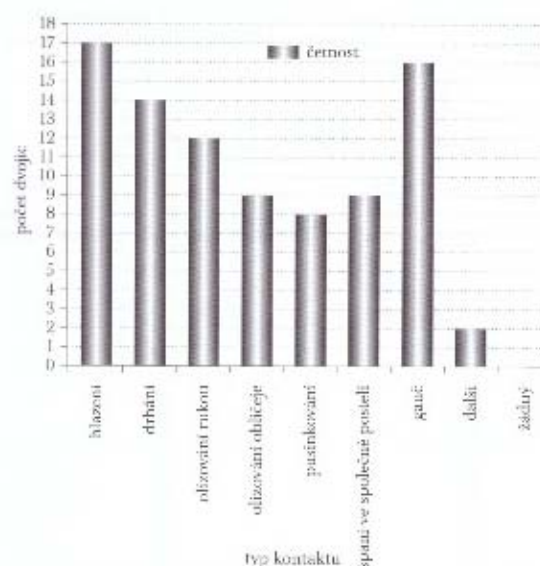
Cílem malé pilotní studie náhodně vybraných dvaceti párů je monitorovat sdílené množství druhů mikromycet nejčastěji chovaných domácích mazlíčků (kočka, pes) a jejich majitele s ohledem na oportunní patogeny. Je sledován i možný vliv ATB na množství mikroskopických hub u studovaných jedinců. Monitoring biodiverzity, přenosu a sdílení mykotického agens by mohl poukázat na možná rizika infekce oportunními houbovými patogeny, neboť kontakt s domácími mazlíčky je v podstatě nedílnou součástí životů většiny z nás.

Materiál a metody

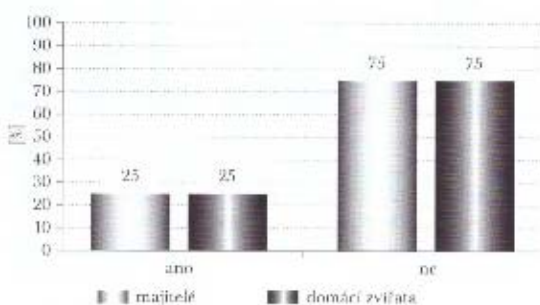
Odběr vzorků probíhal v období únor až říjen 2014 vždy ve veterinární ordinaci. Vzorky poskytl se souhlasem 20 párů. Studie se zúčastnilo 16 majitelů se psy a 4 majitelé s kočkami. Odběry zvířeti provedl veterinární lékař. Majitel si klinický materiál odebral sám dle instrukcí. Na odběrech se podílely Veterinární klinika Gayerovy kasárna a BENE-MASTR, Sdružení veterinárních lékařů. Odběr vzorků probíhal se souhlasem etické komise. Majitel vyplnil dotazník, kde uvedl základní informace, charakterizující způsob chovu zvířete a blízkost jejich vztahu. Dotazník poskytuje také informace o užívání ATB v posledních dvanácti měsících u ohou ze studované dvojice. Získané vzorky byly anonymní, označeny identifikačním číslem páru (ID 1–20). Stejně číslo bylo přiděleno příslušnému vyplněnému dotazníku. U všech psů i koček byl proveden výtěr z nosní dutiny a vnějšího zvukovodu. U zvířat s kožní lézí byla odebrána také kožní šupina z postiženého místa z důvodu případného výskytu dermatofytů. Výtěry u majitele byly získány z nosní

dutiny, podpaží a meziprstí na nohou. Odběrová místa byla vyhrána s ohledem na přirozeně se vyskytující druhy vláknitých hub a kvasinek, které by mohly být sdíleny oběma z páru. Odběry byly provedeny pomocí výtěrových tyčinek s transportním médiem (Amies). Všechny vzorky měly na očíslovaném štítku poznamenáno, komu byl biologický materiál odebrán, datum odběru a lokalizace výtěru. Vzorky byly do 2 hodin po odběru dopraveny do Ústavu klinické mikrobiologie ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (ÚKM FN HK). Primokultivace byly provedeny na Sabouraudův agar s chloramfenikolem (SAB2) a Sabouraudův

Graf 1
Typy kontaktu mezi majitelem a domácím mazlíčkem



Graf 2
ATB terapie u majitelů a jejich mazlíčků za posledních 12 měsíců



agar s chloramfenikolem a cykloheximidem (SAB3) a inkubovány v termostatu při teplotě 25 °C po dobu 48 hod. Narostlé kolonie kvasinek byly izolovány na chromogenní agar Colorex Candid (CCA), zygomycety na sladidlový agar se 4° cukernatosti dle Balinga (SA4) a anamorfní vláknité houby na Czapek agar (CZA), Czapek agar s kvasničným extraktem (CYA) a agar s malt extraktem (MEA). Přímokultury byly ponechány 21 dní při laboratorní teplotě s ohledem na pomalu rostoucí vláknité houby. Mikroskopická identifikace hub byla potvrzována přístrojem Matrix Assited Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight (MALDI – TOF).

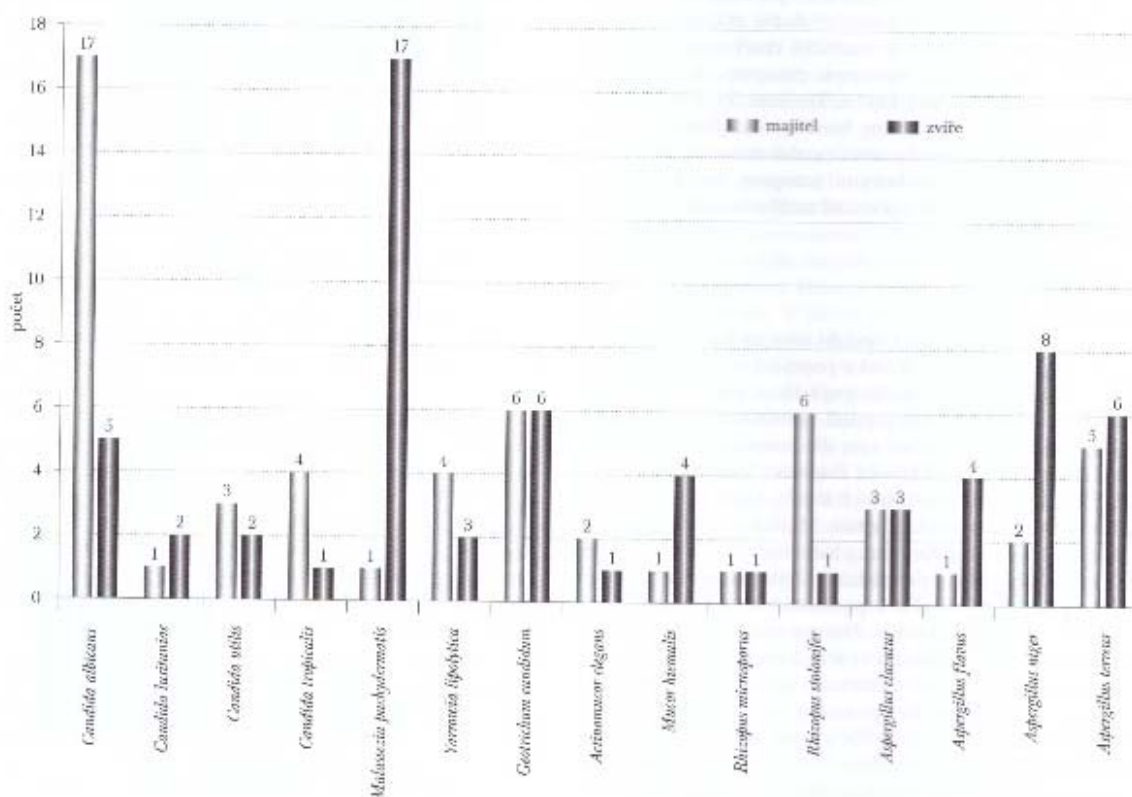
Pro stanovení intimity vztahu majitele a zvířete jsme konstruovali tzv. Contact Index (CI) se stupnicí 0–8. V dotazníku jsou označeny kontakty majitele se zvířetem (hlazení, olizování rukou, obličej, sdílení postele atd.). Každá možnost byla ohodnocena jedním bodem, pouze odpověď „žádný kontakt“ má hodnotu 0. Contact Index je využit k vyhodnocení hypotéz. Hypotéza č. 1 se týká možné závislosti mezi hodnotou Contact Indexu a výskytem společných druhů hub. Míra závislosti byla vyhodnocena podle Pearsonova korelačního koeficientu.

Výsledky

Dotazník vyplnilo 20 majitelů zvířat, 60 % ženy a 40 % muži. Všichni dotazovaní majitelé žijí s domácím zvířetem v jedné domácnosti a jsou jejich pánem. V 80 % je studovaným mazlíčkem pes a ve 20 % kočka. 20 % mazlíčků není v žádném kontaktu s ostatními zvířaty, 80 % mazlíčků je v kontaktu buď s ostatními chovanými zvířaty v domácnosti, nebo s cizími venku. Z dotazníku je také zřejmé, že 65 % majitelů chová mimo studované zvíře ještě další. Nejčastěji se jedná o psy, kočky. Majitelé označili, jak úzký kontakt mají se zvířetem. Obvyklým kontaktem je hlazení (85 %), spaní na gauči (80 %) a 45 % dvojic spolu sdílí postel. Nejméně častým kontaktem bylo chování zvířete v náručí a vyližování talíře, které uvedl vždy pouze jeden majitel (graf 1). Všichni majitelé mají se zvířetem alespoň minimální kontakt.

V domácnosti s pravidelnými vycházkami je chováno 70 % zvířat, 15 % je drženo venku a jen v chladném počasí jsou doma a 15 % zvířat se pohybuje libovolně v domácnosti i venku. Ze všech studovaných domácích mazlíčků je pouze 20 % krmeno výhradně granulami, v 5 % dostává zvíře granule, ale zároveň loví i drobné divoce žijící živočichy. Nej-

Graf 3
Druhy mikroskopických hub s výskytem u člověka i u domácího zvířete



větší procentuální zastoupení má kombinace různých druhů stravy. V dotaznících bylo zjišťováno, zdali majitel či domácí mazlíček užíval za poslední rok ATB, což bylo potvrzeno u 25 % majitelů a 25 % chovaných zvířat (graf 2).

V tabulce 1 je uveden přehled druhů mikroskopických hub zachycených z klinického materiálu účastníků studie.

Mikroorganismy byly kultivovány z 5–6ti míst, šest jich bylo v případě kožní léze zvířete. Celkem bylo odebráno 103 vzorků, z nichž bylo izolováno 45 druhů hub. U člověka bylo izolováno 32 druhů a ze zvířat 28 druhů mikroskopických hub. Nejpočetnějším druhem je *C. albicans*, izolovaná ze 30 vzorků. Mykologicky nejhudší se ukázaly vzorky z nosní sliznice člověka. Byly zde izolovány pouze 4 druhy. Nejčastějším zástupcem z nosní sliznice je *C. albicans* (4 u majitelů a 5 u zvířat) a z podpaží rovněž *C. albicans* (12 izolací). Nejbohatší stěry u člověka byly z mezprstí nohou (26 druhů). Nejčastěji zde byla identifikována opět *C. albicans* (8 majitelů). Druhově nejpočetnější vzorky ze zvířat byly z ucha, převládá zde *M. pachydermatis* (17 psů a koček). *C. albicans* se ve zvukovodech sledovaných zvířat nevyskytl.

U tří domácích mazlíčků byl odebrán dermální stěr nebo šupina. Z kožního materiálu zvířat bylo izolováno 11 druhů hub. *M. pachydermatis* byla nalezena ve všech třech případech.

U studovaných vzorků od majitelů byla v 85 % přítomna *C. albicans*, zatímco u domácích mazlíčků byla přítomna pouze v 25 %. U psů a koček byla nejčastěji izolována *M. pachydermatis*, která se vyskytla u 85 % odebraných vzorků, zatímco u lidí byla identifikována pouze v 5 % (graf 3).

U studovaných vzorků člověka byly nejčastěji zjištěny kvasinky, méně často zygomycety a ojediněle pak ostatní vláknité houby. Zatímco u zvířat se objevuje nejvíce druhů vláknitých hub, méně často kvasinek a nejméně zygomycet (viz graf 4).

Hypotéza 1

H0: Stupeň Contact indexu má vliv na množství sdílených druhů hub.

Nebyla prokázána souvislost mezi Contact indexem a počtem společných druhů u sledovaných dvojic (viz graf 5).

Hypotéza 2

H0: Existuje korelace mezi ATB terapií v posledních 12ti měsících a početností druhů mikroskopických hub, které léčený makroorganismus osidluje.

Výpočet Pearsonova korelačního koeficientu u zvířat je roven 0,705 (graf 6), hodnoty jsou v rozmezí 0,7–0,8, jedná se tedy o silnou korelaci.

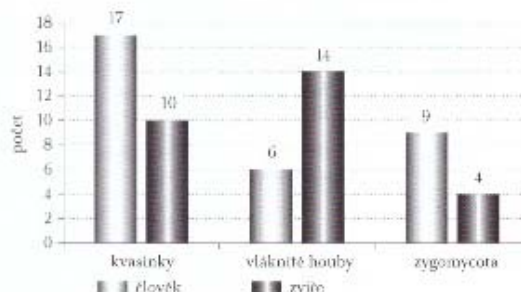
Výpočet Pearsonova korelačního koeficientu u lidí je roven 0,780 (graf 7), hodnoty jsou v rozmezí 0,7–0,8, jedná se tedy o silnou korelaci.

Na základě zjištěných výsledků nezamítáme H0 o možné souvislosti mezi užíváním ATB a nárůstem počtu druhů mikroskopických hub.

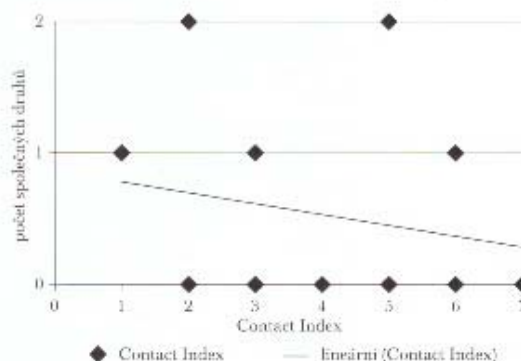
Diskuze

V 80 % je domácím mazlíčkem pes a ve 20 % kočka. Ve své studii Chomel, Sun (2011) interpretují úzkost kontaktu

Graf 4
Kvantita kvasinek a vláknitých hub u majitele a domácího mazlíčka



Graf 5
Korelace Contact indexu a počtu společných druhů mikroskopických hub



domácího mazlíčka a jeho majitele. Bylo zjištěno, že v USA sdílí až 50 % majitelů společnou postel se svým psem. Ve Velké Británii se průzkumu zúčastnilo 260 domácností, kde bylo zjištěno, že pouze 14 % majitelů sdílí kožu se svým psem, ale celkově 45 % koček spí vedle majitele na posteli. Studie, provedená v Holandsku, poukazuje na to, že 50 % majitelů dovolí zvířeti olizovat obličej, 45 % psů a 62 % koček může vylézt na postel majitele, ale maximálně 30 % mazlíčků může spát s majitelem v jedné posteli [1].

V provedené studii jsme sledovali 20 párů majitelů a jejich mazlíčků. Ze získaných výsledků vyplývá, že 45 % majitelů sdílí společnou postel se svým domácím mazlíčkem. Studovali jsme existenci korelace mezi Contact indexem a množstvím druhů sdílených hub. Dle našich výsledků nemá míra kontaktu majitele a zvířete vliv na výskyt společných druhů mikroskopických hub. Majitelé byli především mladší lidé s dobrými hygienickými návyky, a proto se ani nepředpokládá, že by byli kolonizováni jinou než přirozenou mykoflórą. Kontaminace či patologický infekční proces přicházejí v úvahu jen výjimečně.

Tabulka 1
Identifikace mikrobioty majitele (MJ) a domácího mazlíčka (MZ) – 1. část

ID	MJ nos	MJ podpaží nohou	MJ mezprstí	MZ nos	MZ ucho materiál	MZ kožní
1		<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. dubliniensis</i> <i>M. furfur</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>A. terreus</i> <i>M. furfur</i>		<i>M. pachydermatis</i> <i>C. valida</i> <i>A. flavus</i> <i>G. candidum</i>	<i>M. hiemalis</i> <i>Cl. cladosporioides</i> <i>R. microsporus</i> <i>M. pachydermatis</i>
2		<i>C. albicans</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>		<i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> <i>mycelia sterilia</i> <i>M. pachydermatis</i>	<i>M. canis</i> , <i>A. flavus</i> <i>C. sphaerospermum</i> <i>A. elegans</i> <i>M. pachydermatis</i>
3		<i>M. furfur</i> <i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>		<i>A. niger</i> <i>M. pachydermatis</i>	
4		<i>C. albicans</i>	<i>M. plumbeus</i> <i>P. nitens</i>	<i>S. salmonicolor</i> <i>G. candidum</i>	<i>C. lambica</i> , <i>C. valida</i> <i>R. stolonifer</i> <i>P. variable</i>	
5		<i>C. albicans</i>	<i>M. hiemalis</i> <i>A. elegans</i> <i>C. albicans</i>	<i>A. terreus</i> <i>A. nidulans</i> <i>C. cladosporioides</i> <i>C. utilis</i>	<i>A. niger</i> <i>C. lusitaniae</i> <i>M. pachydermatis</i>	
6		<i>C. dubliniensis</i> <i>C. albicans</i> <i>C. kefir</i> <i>G. candidum</i> <i>M. furfur</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>R. stolonifer</i> <i>M. plumbeus</i> <i>A. elegans</i>	<i>C. sphaerospermum</i> <i>P. canescens</i> <i>G. candidum</i>	<i>A. terreus</i> <i>C. lusitaniae</i> <i>M. pachydermatis</i>	
7		<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. kefir</i> <i>M. furfur</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. lusitaniae</i> <i>C. krusei</i> <i>Y. lipolytica</i> <i>A. clavatus</i>		<i>M. pachydermatis</i> <i>A. clavatus</i>	
8		<i>C. kefir</i> <i>M. furfur</i>	<i>C. albicans</i> <i>A. clavatus</i>		<i>A. flavus</i> <i>M. hiemalis</i> <i>M. pachydermatis</i> <i>C. valida</i> , <i>C. lambica</i>	
9	<i>C. albicans</i>	<i>C. utilis</i> <i>R. rubra</i>	<i>A. clavatus</i> <i>A. flavus</i>	<i>C. utilis</i>	<i>M. pachydermatis</i>	
10	<i>C. albicans</i>	<i>C. utilis</i> <i>C. kefir</i> <i>A. parasiticus</i>	<i>T. mentagrophytes</i> <i>C. parapsilosis</i>	<i>A. terreus</i> <i>A. clavatus</i>	<i>M. pachydermatis</i>	
11		<i>C. albicans</i> <i>C. utilis</i>	<i>R. rubra</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>G. candidum</i>	<i>M. pachydermatis</i>	<i>A. terreus</i>	
12		<i>C. glabrata</i> <i>G. candidum</i>	<i>C. albicans</i> <i>M. furfur</i> <i>A. niger</i>	<i>P. variable</i>	<i>M. pachydermatis</i> <i>P. variable</i> <i>A. candidus</i>	
13		<i>C. albicans</i> <i>C. krusei</i>	<i>A. terreus</i> <i>C. orthopsilosis</i>		<i>M. pachydermatis</i> <i>S. salmonicolor</i>	
14	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. dubliniensis</i> <i>C. tropicalis</i> <i>M. furfur</i> <i>M. plumbeus</i>	<i>A. terreus</i> <i>P. variotii</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>R. stolonifer</i>	<i>C. lambica</i>	<i>A. niger</i> <i>P. chrysogenum</i> <i>M. pachydermatis</i>	

Tabulka 1
Identifikace mikrobioty majitele (MJ) a domácího mazlíčka (MZ) – 2. část

ID	MJ nos	MJ podpaží nohou	MJ meziprstí	MZ nos	MZ ucho materiál	MZ kožní
15	<i>A. niger</i>	<i>G. candidum</i> <i>M. furfur</i> <i>Y. lipolytica</i>	<i>C. glabrata</i> <i>M. plumbeus</i> <i>R. stolonifer</i>	<i>C. albicans</i> <i>A. terreus</i>	<i>Y. lipolytica</i> <i>M. pachydermatis</i> <i>P. chrysogenum</i> <i>A. nidulans</i> <i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>M. pachydermatis</i> <i>A. clavatus</i>
16	<i>G. candidum</i>	<i>C. glabrata</i> <i>M. furfur</i> <i>M. pachydermatis</i>	<i>S. cerevisiae</i> <i>R. microsporus</i> <i>M. circinelloides</i>	<i>C. albicans</i>	<i>G. candidum</i> <i>A. flavus</i> <i>P. lividum</i>	
17	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>M. furfur</i>	<i>R. arrhizus</i> <i>R. stolonifer</i> <i>A. terreus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>Y. lipolytica</i> <i>M. pachydermatis</i>	
18	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i> <i>G. candidum</i> <i>R. rubra</i> <i>M. furfur</i>	<i>C. parapsilosis</i> <i>C. krusei</i> <i>C. glabrata</i> <i>R. stolonifer</i> <i>A. terreus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i> <i>A. nidulans</i> <i>G. candidum</i>	
19		<i>C. albicans</i> <i>R. rubra</i>	<i>Y. lipolytica</i> <i>P. variotii</i> <i>R. stolonifer</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. valida</i> <i>M. pachydermatis</i> <i>P. thomii</i> <i>A. terreus</i> <i>A. niger</i> <i>M. hiemalis</i>	
20		<i>C. dubliniensis</i> <i>Y. lipolytica</i>	<i>C. krusei</i> <i>C. parapsilosis</i>	<i>G. candidum</i>	<i>M. pachydermatis</i> <i>A. niger</i>	

Cheng (2012) ve své studii uvádí, že oportunní lidský patogen *C. albicans* je zodpovědný za většinu mykotických infekcí. Kmeny přítomné v lidském těle a na kůži savců jako běžná mikroflóra jsou obvykle neškodné [30].

Xu, Mitchell (2013) uvádějí širší biodiverzitu druhů kandid, izolovaných jako součást lidské fyziologické mikroflóry. V Číně se v lidské populaci vyskytují na sliznicích a kůži převážně jiné druhy kandid (*C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. humicola*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* a *C. tropicalis*), zatímco v Evropě je převládajícím zástupcem *C. albicans* [31].

V naší studii byly odebrány vzorky majitelů ze tří různých míst na těle: z nosní sliznice, z podpaží a z meziprstí nohou. Nejčastějším nálezem zde byla *C. albicans*. Ve vzorcích z nosní sliznice byla zastoupena ve 25 %, v podpaží v 60 % a ve stěrech z meziprstí ve 40 %. Dalšími často izolovanými zástupci byli *M. furfur*, *C. parapsilosis* na stěru z meziprstí a *R. stolonifer*. Naše studie potvrdila, že nejčastějším druhem mikroskopické houby, která osidluje studované části těla člověka, je *C. albicans*. U Asiátů lze předpokládat rozdílnou stravu, která ovlivňuje pH kůže a sliznic a také množství či dostupnost organických zdrojů uhlíku, z nichž kvasinky i jiné houby získávají energii. Z těchto důvodů by mohla *C. albicans* ztrácet svou dominanci ve složce

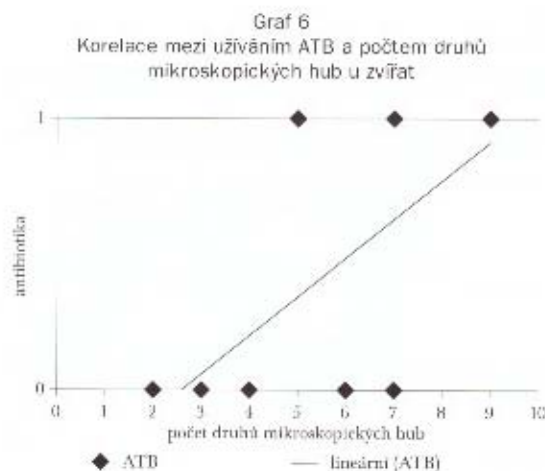
ní fyziologické mykoflóry ve prospěch ostatních druhů kandid.

Ribes a kol. (2000) studovali nejčastější druhy zygomycet u člověka. Zabývali se studiem Mucorales a Entomophthorales. Většinu lidských onemocnění způsobují právě zástupci řádu Mucorales. Nejčastějším patogenem je *Rhizopus* sp. dále *Mucor*, *Rhizomucor* a *Absidia* [32].

Z odebraných lidských stěrů jsme nejčastěji izolovali *R. stolonifer*, který byl přítomen u 30 % vzorků z meziprstí majitele. Druhým nejčastějším druhem byl *M. plumbeus* 20 %. *R. arrhizus*, *R. microsporus* a *M. hiemalis* se vyskytly pouze u 5 % případů. Lze usuzovat, že majitelovo chodidlo přišlo do styku s exkrementem, neboť zaznamenané druhy zygomycet jsou buď vykořisťovateli koprofilní, nebo alespoň koprofiontní.

Lyskova a kol. (2007) studovali mikroskopickou houbou mikroflóru zevního zvukovodu psů, kdy identifikovaly *M. pachydermatis* jako nejčastěji izolovanou mikroskopickou houbu, která se vyskytovala v 30,9 % vyšetřovaných vzorků [12]. V naší studii byla *M. pachydermatis* kultivována v 82,25 % výtěrů zvukovodu psů a u 100 % výtěrů zvukovodu kočky.

Bríto a kol. (2009) studovali převládající druh kvasinky *M. pachydermatis*, který se vyskytuje u zdravých psů. Méně



častý výskyt byl zaznamenán u druhů *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* a *Rhodotorula* sp. Studie ukázala, že *M. pachydermatis*, *S. cerevisiae* a *Rhodotorula* sp. jsou součástí běžné povrchové mikrobioty u psů [33].

V naší práci z nosní sliznice 4 majitelů a rovněž 4 zvířat byla izolována *C. albicans*. Druhově nejbohatší byly nálezy ze zvukovodu, s nejčastějším výskytem *M. pachydermatis*, u 85 % studovaných domácích mazlíčků. Ve 40 % se objevil *A. terreus*. Je zajímavé, že *C. albicans*, která je nejčastějším druhem téměř ve všech ostatních vzorech, se ve stěru z ucha neobjevila ani jednou. Studie tedy připouští, že monitorování majitelů příliš nedbají o hygienu uší svých mazlíčků, neboť značné množství bakteriálních druhů [34] a masivní výskyt lipofilní kvasinky *M. pachydermatis* svědčí o přemíře živného substrátu pro tyto mikroorganismy, jakým bezesporu je ušní maz. *C. albicans* jimi pravděpodobně byla vytlačena z mikrobiálního společenstva sekundárně. Kučerová (2009) uvádí, že by tato nerovnováha mohla vést k rozvoji onemocnění otitis externa [35]. Pokud mělo zvíře kožní onemocnění, byla mu odebrána i kožní šupina. Zde byla vždy nalezena *M. pachydermatis*.

Sedlák, Tomšíčková (2006) ve své knize uvádějí, že až u 90 % koček a psů může za dermatomykózy *M. canis* [36].

Ve vzorcích odebraných z kůže studovaných domácích mazlíčků byl izolován *M. canis* pouze v jednom případě. Předpokládáme, že se jednalo pouze o kontaminaci z půdy touto geobiontní houbou, což ještě nemusí nutně vést k rozvoji dermatomykózy. Zjistili jsme, že majitelé byli více osídleni kvasinkami než vláknitými houbami, zatímco u zvířat bylo identifikováno více druhů vláknitých hub. Člověk má slizniční a kožní sekrety v porovnání se psy a kočkami mnohem bohatší na glukózu, která představuje pro kvasinky i zygomycety nejnázve dostupný zdroj energie k růstu. Rody *Aspergillus* a *Penicillium*, případně jiné anamorfní vláknité druhy žijící v půdě, rostou pomaleji a jsou na živný substrát náročnější. Předpokládáme zvýšený kontakt domácích zvířat s půdou a zeminou, a tedy i kontaminaci sporama většího spektra druhů.

Cheng a kol. (2012) sledovali vliv používání ATB na výskyt infekcí, které jsou způsobeny mikroskopickými houbami. Výsledkem jejich studie je zjištění, že ATB terapie přispívá k výrazně vyšší četnosti mykotických infekcí, a tedy i zvýšeného počtu druhů, které daného pacienta osidluje. Antibakteriální a imunosupresivní léčba narušuje přirozenou bakteriální kolonizaci a potlačuje imunitní systém, v těle se pak vytváří nerovnováha ve prospěch mikromycet, která vede k jejich přemnožení a rozvoji houbové infekce [30].

Samonis a kol. (1993) studovali účinky širokospektrých ATB na kvasinkovou flóru u člověka. Týden po ukončení terapie došlo k nárůstu počtu kolonií [37].

Ribes a kol. (2000) tvrdí, že užíváním širokospektrých ATB dochází k nárůstu počtu zygomycóz. Dochází i k větší kolonizaci pacienta [32].

Naše studie sledovala souvislost mezi užíváním ATB a počtem druhů mikroskopických hub u studovaného jedince. Dle dotazníků bylo zjišťováno, zdali majitel či domácí mazlíček prodělal v posledních 12 měsících ATB terapii. Užívání ATB potvrdilo 25 % studovaných lidí. U domácích mazlíčků byl počet shodný. Pearsonův korelační koeficient prokázal v obou případech silné korelace. Můžeme tedy potvrdit, že ATB terapie má velmi pozitivní vliv na množství druhů mikroskopických hub, které se u makroorganismů vyskytly. Příbuznost izolátů společných druhů hub bude nutné potvrdit nejprve testem citlivosti na antimykotické látky a poté i genotypizací molekulárně biologickými metodami (např. PFGE), což plánujeme v aplikované studii. Přítomnost stejného houbového druhu u zvířete a člověka, který se vyskytuje u obou makroorganismů běžně, ještě nemusí znamenat genetickou příbuznost ani v případě společné rezistence.

Závěr

Celkové vyhodnocení mykotické mikrobioty poukazuje na pravděpodobnost, že člověk je nejčastěji osídlen kvasinkami. Naopak ze vzorků od domácího mazlíčka byly nejčastěji identifikovány vláknité anamorfní houby. Užívání

ATB má patrně pozitivní vliv na množství druhů mikroskopických hub. V aplikované studii nadále pokračujeme. Výběr testovaných dvojic jsme vymezili jen na ty, v nichž alespoň jeden z páru užíval ATB za posledních rok. Předmětem aplikovaného výzkumu se staly oportunně patogení mykoorganismy, které jsou sdíleny nejčastěji. Úkolem bylo prověřit metodiku, proveditelnost a možnosti pro aplikovanou studii. Protože byl ve statistické části práce testován menší rozsah souboru, nelze s jistotou rozhodnout, zda naše tvrzení platí. Můžeme však říci, že byly zjištěny výsledky, které je třeba rozšířit a zpracovat i proto, že Česká republika patří ke státům s největším počtem domácích mazlíčků v Evropě.

Práce je podpořena finančními prostředky z:

1. SVV 260 398;
2. Vnitřní soutěž Lékařské fakulty v Hradci Králové UK v Praze, č. 84125.

Literatura

1. Chinnel RB, Sun B. Zoonoses in the Bedroom. *Emerging Infectious Diseases*. 2011;17(2):167–172.
2. Garbee DD, Pierce SS, Manning J. Opportunistic Fungal Infections in Critical Care Units. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2017;29(1):67–79.
3. Mercier T, Maertens J. Clinical considerations in the early treatment of invasive mould infections and disease. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72 (suppl_1):i29–i38.
4. Cendyja-Buena F, Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Identification of Pathogenic Rare Yeast Species in Clinical Samples: Comparison between Phenotypic and Molecular Methods. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1895–1899.
5. Haber J. Systemové mykózy a jejich léčba. Galén, 1995; 1. vyd. ISBN 80-858-2416-7.
6. Fukuda R. Metabolism of hydrophobic carbon sources and regulation of it in n-alkane-assimilating yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013;77(6):1149–1154.
7. Kluban V. Ekologie mikroorganismů. Galén, 2011. ISBN 978-80-7262-770-7.
8. D'Antonio D, Romano F, Poncieri B, Fiorini G, Caracciolo C, Bianchini S, Olivero P, Stanisci A, Sterni R, Boccia S, Veraschi A, Federico G, Gaudio E, Carruba G. Catheter-Related Candidemia Caused by *Candida lipolytica* in a Patient Receiving Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002;40(4):1381–1386.
9. Hattori H, Inoue C, Tomita Y, Kanbe T. A case of oral geotrichosis caused by *Geotrichum capitatum* in an old patient. *Jpn J Infect Dis*. 2007; 60(5):300–301.
10. Taj-Aldeen SJ, Al-Ansari N, El-Shakei S, Meis JF, Curfs-Breuker I, Theelen B, Boekhout T. Molecular identification and susceptibility of *Trichosporon* species isolated from clinical specimens in Qatar. Isolation of *Trichosporon dubautense*. *Journal of clinical microbiology*. *American Society for Microbiology*. 2009;47(6):1791–1799.
11. Bauman RW. Microbiology with Diseases by Taxonomy (Symbiosis: The Pearson Custom Library for the Biological Sci). Hardcover, 2010; 3. vydání ISBN-13: 978-0321640437.
12. Lysková P, Vyzrážková M, Mazurova J. Identification and Antimicrobial Susceptibility of Bacteria and Yeasts Isolated from Healthy Dogs and Dogs with Otitis Externa. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 2007;54(10): 559–563.
13. Blake J, Keil D, Kwochka K, Palma K, Schofield J. Evaluation of a single administration otic topical treatment for canine otitis externa: a randomised trial. *Ver Rec Open*. 2017;4(1):e000219.
14. Iata R, Cafarchiu C, Cuna T, Montagna O, Laforgia N, Gentile O, Rizzo A, Boekhout T, Otranto D, Montagna MT. Bloodstream infections by *Malassezia* and *Candida* species in critical care patients. *Med Mycol*. 2014;52(3):264–269.
15. Welbel SF, McNeil MM, Pramanik A, Silberman R, Oberle AD, Midgley G, Crow S, Jarvis WR. Nosocomial *Malassezia pachydermatis* bloodstream infections in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J*. 1994; 13(2):104–108.
16. Chang HJ, Miller HL, Watkins N, Andruino MJ, Ashford DA, Midgley G, Agüero SM, Pinto-Powell R, von Reyn CF, Edwards W, McNeil MM, Jarvis WR. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. *N Engl J Med*. 1998;338(11):706–711.
17. Bumroongthai K, Chetanchan P, Niyomtham W, Yutiyart C, Prapansakul N. Biofilm production and antifungal susceptibility of co-cultured *Malassezia pachydermatis* and *Candida parapsilosis* isolated from canine seborrheic dermatitis. *Med Mycol*. 2016;54(5):544–549.
18. Vu K, Tham R, Uhrig JP, Thompson GR, Pombejra SN, Jamklang M, Baulon JM, Gelli A. Invasion of the Central Nervous System by *Cryptococcus neoformans* Requires a Secreted Fungal Metalloprotease. *mBio*. 2014;5(3): e01101–14.
19. Sykes JE, Malik R. Cryptococcosis. In: Green CE, editor. Infectious diseases of dog and cat. 4th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2012: 621–634.
20. Kano R, Okubo M, Yamai T, Hasegawa A, Kamata H. First Isolation of Azole-Resistant *Cryptococcus neoformans* from Feline Cryptococcosis. *Mycopathologia*. 2015;180(5-6):427–433.
21. Beněš J. Infekční lékařství. Praha: Galén, 2009; 1. vyd. ISBN 978-807-2626-441.
22. Greenwood D, Slack RC, Featherer JF. Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeny, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Překlad Jiří Schindler. Praha: Grada, 1999; 1. vyd. ISBN 80-716-9365-0.
23. Kodoušek R. Mykózy: lékařsky významná mykologická onemocnění člověka. Olomouc: Univerzita Palackého, 2003; 1. vyd. ISBN 80-244-0649-7.
24. Muntau AC. Pediatrie. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2525-3.
25. Launecelot ZA, Palmisano MP, Stefanucci JD, Whitney BL. Ventricular pneumocephalus, cervical subarachnoid pneumorrhachis, and meningoencephalitis in a dog following rhinotomy for chronic fungal rhinitis. *J Am Vet Med Assoc*. 2016;248(4):430–435.
26. Skiada A, Pignato L, Groll A, Zimmerli S, Dupont B, Lagrou K, Lass-Flörl C, Bouza E, Klimko N, Gristad P, Richardson M, Hamal P, Akova M, Meis JF, Rodríguez-Tudela JL, Roldões E, Mitrousis-Zioura A, Petrakides G. Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clin Microbiol Infect* 2011; doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03456.x.
27. Zachary D, Chapin K, Bians L, Tashima K. Cutaneous mucormycosis complicating a polymicrobial wound infection following a dog bite. *Case Rep Infect Dis*. 2011; ID 348046. doi: 10.1155/2011/348046.
28. Kuzhawa RKS, Guarro J. Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. Bilbao: *Revista Iberoamericana de Micología*. 2000; ISBN 84-607-0711-3.
29. Chollat A, Wespi B, Roosje P, Unger L, Venzler M, Goeppfert C, Monod M. An outbreak of *Arthroderma vanbreuseghemii* dermatophytosis at a veterinary school associated with an infected horse. *Mycoses*. 2015;58(4):233–238.
30. Cheng S-CH, Joosten LAB, Kullberg B-J, Netea MG. Interplay between *Candida albicans* and the Mammalian Innate Host Defense. *Infection and Immunity*. 2012;80(4):1304–1313.
31. Xu J, Mitchell TG. Geographical Differences in Human Oral Yeast Flora. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;36(2):221–224.
32. Ribes JA, Vazquez-Santos CL, Baker DJ. Zygomycosis in Human Disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002;13(2):236–301.
33. Brito EHS, Fontenelle ROS, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sardin JJC, Rocha MFG. The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. *The Veterinary Journal*. 2009;182(2):320–326.
34. Wipler J, Černáková Z, Hanžálek T, Horáková H, Žemčíková H. Sharing bacterial microbiota between owners and their pets (dogs, cats). *Klin Mikrobiol Inf Lek*. 2017; 23(2):48–57.
35. https://ispace.upce.cz/bitstream/10195/33935/1/KucerovaP_Mikrobialni%20nalezy_JM_2019.pdf.
36. Sedláček K, Tvršíčková M. Nebezpečné infekce zvířat a člověka. 2006; 1. vyd. Praha: Scientia. ISBN 80-869-6007-2.
37. Santonis G, Gikas A, Anagnostis EJ, Vrechos G, Mani S, Tselenis Y, Brodey GP. Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993;37(1):51–53.