

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní program: Biologie



Mykobiom lidského trávicího traktu ve zdraví a nemoci

Human gastrointestinal mycobiome in health and disease

Bakalářská práce

Autor: Natalie Galanová

Školitel: Mgr. Miroslav Kolařík, Ph.D.

Praha, 2015

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 12.05.2015

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli Mirku Kolaříkovi za jeho vstřícnost, trpělivost a cenné rady. Velký vděk patří i mým konzultantům MUDr. Miroslavu Kverkovi, Ph.D., Mgr. Martinu Kostovčikovi a Bc. Tomáši Zelenkovi, kteří mne odhodlaně vedli teorií i praxí. Také bych ráda vyzdvihla pomoc a podporu milovaných blízkých.

Abstrakt

Práce komplexním způsobem shrnuje poznatky o mykobiomu trávicího traktu člověka. Podává tak přehled o výskytu, diverzitě a četnosti hub v jednotlivých částech trávicí trubice, faktorech určujících složení jejích společenstev, interakcích s imunitním systémem, ostatními mikroby i mezi jednotlivými členy houbové komunity. Stručně naznačuje používanou metodologii při studiu daného předmětu spolu s výhodami jednotlivých postupů. Shrnuje a diskutuje současné znalosti o přirozeném mykobiomu, který se podílí na efektivním fungování organismu a to i v případech, kdy se tento podílí na vzniku a udržování stavu disbalance. Pro rod *Candida*, dominantní gastrointestinální rod, je shrnuta ekologie i podrobnější interakce s okolím. Střevní mykobiota je dle posledního výzkumu považována za důležitý faktor ve vývoji některých lokálních onemocnění, k nimž patří také idiopatické střevní záněty, ulcerózní kolitida a Crohnova choroba, nebo syndrom dráždivého tračníku. Ovšem také různá zdánlivě nesouvisející onemocnění jsou v posledních letech spojována se změnou ve střevním mykobiomu. Navíc se střevní komunita svou imunogenní podstatou podílí i na vzniku obraných reakcí v jiných částech těla.

Klíčová slova: mykobiom, mikrobiota, sekvenování nové generace, ITS rDNA, diverzita, idiopatické střevní záněty, dráždivý tračník

Abstract

This Bachelor thesis is a complex review of information about mycobiome of human digestive tract. It summarizes the known incidence, diversity and abundance of fungi in different parts of the gastrointestinal tract together with factors that determine composition of its communities. It also describes plentiful interactions with immune system, other microbes and between fungal species themselves. Then there is a brief remark about methodology that is in use for this subject together with its pros and cons. Thesis sums up and discusses current knowledge about the healthy mycobiome, highlighting cases, when it plays role in the formation of disbalance often resulting in an outbreak of a disease. The paper considers ecology and detailed interactions with the environment for *Candida* species, the dominant gastrointestinal fungus. Intestinal mycobiota has been lately purposed as an important factor in the development of certain local diseases, which include inflammatory bowel disease, ulcerative colitis and Crohn's disease, or irritable bowel syndrome. Moreover other seemingly unrelated diseases have been associated with a change in intestinal mycobiome in the recent years. Finally intestinal community plays with its immunogenic nature important role in defense mechanisms elsewhere within the body.

Key words: mycobiome, microbiota, next generation sequencing, ITS rDNA, diversity, inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome

OBSAH

Seznam použitých zkratk

| | |
|---|-----------|
| 1. Úvod..... | 1 |
| 2. Metody studia mykobiomu..... | 2 |
| 3. Trávicí trakt..... | 4 |
| 4. Mikrobiom trávicího traktu se zaměřením na mykobiom | 5 |
| 5. Imunitní odpověď vůči houbám..... | 6 |
| 6. Faktory ovlivňující diverzitu a četnost mykobiomu..... | 7 |
| 6.1 Vliv diety na střevní společenství | 9 |
| 6.2 Závislost mykobiomu na pohlaví, rase a geografickém členění | 10 |
| 7. Mykobiom a mikrobiom ve zdraví..... | 11 |
| 7.1 Horní aerodigestivní trakt..... | 11 |
| 7.2 Spodní část trávicí trubice | 12 |
| 8. Změněný mikrobiom se zaměřením na mykobiom | 13 |
| 8.1 Vzdálený vliv lokálního společenstva | 14 |
| 8.2 <i>Candida</i> spp. | 16 |
| 8.3 Imunosuprese..... | 18 |
| 8.4 Nemoci asociované s působením mykobiomu a jeho změnami | 21 |
| 8.4.1 Horní aerodigestivní trakt..... | 21 |
| 8.4.2 Spodní část trávicí trubice | 23 |
| 9. Závěr | 27 |
| 10. Výhled na DP..... | 27 |
| 11. Seznam použité literatury | 28 |
| 12. Přílohy | 1 |

Seznam použitých zkratk

| | | |
|--------------------------------|---|--|
| ASCA | Anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> antibodies | Protilátky proti <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| AIDS | Acquired Immunodeficiency Syndrome | Syndrom získaného selhání imunity |
| AK | Aminoacids | Aminokyseliny |
| ANTI-C | Anti-chitin antibodies | Protilátky proti chitinu |
| ANTI-L | Anti-laminarin antibodies | Protilátky proti laminarinu |
| CD | Crohn's disease | Crohnova choroba |
| CFU | Colony forming units | Jednotky tvořící kolonie |
| CLRs | C-type lectin receptors | Lektinový receptor C-typu |
| CRP | C-reactive protein | C-reaktivní protein |
| DGGE | Denaturing Gradient Gel Electrophoresis | Gelová elektroforéza v denaturačním gradientu |
| DNA | Deoxyribonucleic acid | Deoxyribonukleová kyselina |
| FISH | Fluorescence In Situ Hybridization | Fluorescenční In Situ Hybridizace |
| GUT | Gastro-intestinally induced transition | Gastrointestinálně indukovaná přeměna |
| HBV | Hepatitis B Virus Infection | Virová hepatitida B |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus | Virus lidské imunitní nedostatečnosti |
| IBD | Inflammatory Bowel Diseases | Idiopatické střevní záněty |
| IBS | Irritable Bowel Syndrom | Syndrom dráždivého tračnicku |
| IFN-γ | Interferon- γ | Interferon- γ |
| IL | Interleukin | Interleukin |
| ITS | Internal Transcribed Spacer | Vnitřní přepisovaný mezerník |
| MAMPs | Microbe-associated molecular patterns | Molekulární vzory asociované s mikroby |
| MK | Fatty acids | Mastné kyseliny |
| NLRs | NOD-like receptors | Receptor typu NOD |
| NGS | Next Generation Sequencing | Sekvenování nové generace |
| OFRG | Oligonucleotide fingerprinting of ribosomal RNA genes | Oligonukleotidové vzorkování genů rRNA |
| OTU | Operational Taxonomic Unit | Operačně taxonomická jednotka |
| pANCA | Perinuclear Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies | Protilátky proti perinukleární cytoplazmě neutrofilů |
| PCR | Polymerase Chain Reaction | Polymerázová řetězová reakce |
| PRRs | Pattern-recognition receptors | Receptory rozpoznávající molekulární vzory |
| Q-PCR | Quantitative PCR | Kvantitativní PCR |
| rDNA | Ribosomal DNA | Ribozomální DNA |
| RNA | Ribonucleic acid | Ribonukleová kyselina |
| RFLP | Restriction fragment length polymorphism | Polymorfismus délky restričních fragmentů |
| rRNA | Ribosomal RNA | Ribozomální RNA |
| TLRs | Toll-like receptors | Receptory podobné Toll |
| TNF-α | Tumor necrosis factor α | Faktor nádorové nekrózy α |
| UC | Ulcerative colitis | Ulcerózní kolitida |

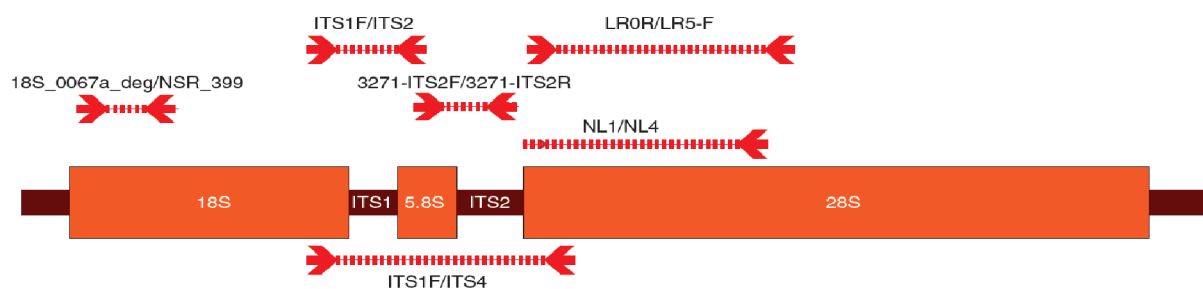
1. Úvod

Předložená práce si dává za cíl shrnout momentálně dostupné informace o mykobiomu lidského trávicího traktu. Mykobiom, neboli houbová složka mikrobiomu sestávajícího se z archeí, bakterií, virů a mikroeukaryot, byl jako termín ustanoven až na začátku 21. století. Kvasinkovité formy hub však byly v lidské stolici detekovány přinejmenším o století dříve. Houby v asociaci s lidskou trávicí trubici tvoří minoritní, ale vysoce diverzifikovanou složku, někdy také označovanou termínem přejatým z ekologie jako *rare biosphere*. Po dlouhou dobu tak byl mykobiom ve stínu studií zabývajících se bakteriální komunitou. Tyto články je přinejmenším vhodné brát na vědomí, neb nám nabízí nejen metodologickou inspiraci, ale také začlenění mykobiomu do komplexnějšího, lépe prozkoumaného celku, což přináší unikátní holistický pohled na gastrointestinální mikročbiom. Díky recentním pokrokům v metodologii, molekulárnímu přístupu k problematice a následné introdukci sekvenování nové generace stojíme na počátku nové objevné epochy. Ideálním postupem by byl detailní popis zdravého mykobiomu, který by pak bylo možné porovnat s tím změněným. Bohužel ne vždy je toto srovnání k dispozici, jak pro jednotlivé části trávicí trubice, tak pro souhlasnou metodologii. V literatuře se stále objevují dozvuky metod již dávno inovovaných a do doby, kdy budeme rutinně sekvenovat ribozomální RNA (rRNA), zřejmě nebude panovat jasný názor na to, které druhy opravdu tvoří přirozené komenzální konsorcium a které jsou pouhou nutriční či environmentální kontaminací. Navíc se v poslední době dostává stále více do popředí názor, kdy druh jako takový již není dostatečně signifikantní, ale důležitá je jeho takzvaná buněčná identita, což reflektuje kapitola 8.2 na rodu *Candida*. Jednoduchý ekologický popis jednotlivých druhů a jejich interakcí ovšem nemůže být dostačující, neboť klíčovou roli zde sehrává imunitní systém. A to jak jedinečný genotyp hostitele, tak rozpoznání druhu imunitou, následná unikátní reakce a tím efekt, který má daná komunita na celkový organismus. Střevní houbová komunita hraje důležitou roli nejen pro lokální i celkový stav trávicího traktu, ale také pro imunokompetenci a generální zdravotní stav hostitele. V obdobích imunosuprese se stává konsorcium trávicí soustavy hlavním možným zdrojem pro přemnožení, translokaci a propuknutí lokální i systémové nemoci. V nejhorším scénáři dochází k hluboké mykotické infekci či fungémii, které způsobují vysokou mortalitu. Takové stavy jsou ve vyspělých zemích dlouhodobě na vzestupu a mnohdy limitují doznání úžasných pokroků chirurgie a medicíny. Studium mykobiomu je tak klinicky i komerčně velmi atraktivní. Krom možné prevence sestávající se z celkové změny životního stylu, stravy, návyků, hygieny, bydlení, váhy a dalších, je dnes již popsána a testována i perorální vakcinace proti některým druhům.

2. Metody studia mykobiomu

Kvasinkovité formy hub v lidské stolici poprvé popsal Anderson (1917). Tehdy byly základem výzkumu metody založené na pěstování kultur na agaru. Z nich byly jednotlivé druhy klasifikovány růstem na selektivním médiu, biochemickými a mikroskopickými analýzami. Tak byla zkoumána celková morfologie kolonie, mikromorfologie struktur, růstové charakteristiky a fyziologické aktivity. I když mnohé rody jsou vláknité, většinová morfologie je uniformní, nejvíce podobná rodu *Candida* (Scanlan a Marchesi 2008). Morfologie samotná pak ovlivňuje adhezi, tvorbu biofilmu i virulenci, a to především přes specifickou expresi adhezínů, která je patrná již pouhým okem, kdy se kolonie stává výrazně vrásněná (Wang et al. 2012). Mezi používaná média patří Sabouraud-dextrózový agar, maltózový agar, agar inhibující růst plísní, bramboro-dextrózový agar, Czapkův agar, Dixon agar a Columbia glycine-vancomycin-polymyxin B kultivační médium. Do většiny z nich je přidáván koktejl širokospektrálních antibiotik, který limituje přemnožení bakterií, a poté jsou misky inkubovány ve 25°C nebo při pokojové teplotě (Gouba et al. 2013), protože často používaných 37 °C způsobuje částečnou ztrátu diverzity podmínkami, které upřednostňují patogenní druhy (Monteiro-da-Silva et al. 2014). Pro některé druhy, jako například *Malassezia*, je vhodné přidat do média olivový olej sloužící jako vnější přísun středních až dlouhých řetězců mastných kyselin (MK) (Findley et al. 2013). Bylo však dokumentováno, že kultivace jako taková upřednostňuje spíše druhy oportunní (Scanlan a Marchesi 2008).

Tato metodologie a její výsledky vedly až k myšlence, že mikroeukaryota nejsou široce distribuovaná ani četná v lidské mikrobiotě (Rajilić-Stojanović et al. 2007), což je skutečně pravdivé tvrzení pro kultivovatelnou složku komunity. Nekultivovatelné druhy totiž tvoří většinu lidského mykobiomu (Ghannoum et al. 2010).



Obrázek 1: Schéma houbového ribozomálního genového klastru s lokalizacemi pro navazování primerů polymerázové řetězové reakce (PCR). Převzato a upraveno z Cui et al. (2013).

S příchodem molekulárních technik se možnosti poznání lidské houbové komunity výrazně rozrostly. U hub je většinou sekvenováno ribosomální DNA (rDNA), Obrázek 1, s primárními cíli vnitřního přepisovaného mezerníku (ITS), nebo 18S malé podjednotky. Úsek 18S však není dostatečně polymorfni a zároveň primery běžně používané pro jeho amplifikaci vykazují vyšší afinitu

k askomycetům. Díky současné detekci jednobuněčných střevních parazitů však poskytuje komplexní náhled na hostitelův zdravotní stav (Dollive et al. 2012).

Jednotlivé metody pro porovnávání houbové diverzity mezi skupinami a jejich přednosti zobrazuje

Tabulka 1. Díky přímému sekvenování houbových genů tak byla objevena výrazná diverzita.

Sekvenování nové generace (NGS) tento proces zlevnilo a zefektivnilo.

Tabulka 1: Přehled metod studia mykobiomu. Převzato a upraveno z Cui et al. (2013)

| Metoda | Výhody | Nevýhody |
|--|--|---|
| Kultivace | ekonomicky výhodná metoda, možnost využití izolovaných kmenů k následným experimentálním manipulacím | 1. větší část lidského mykobiomu jsou nekultivovatelné druhy, 2. přes využití mnoha selektivních médií s přidáním antibiotik tvoří tato metoda specifický selekční tlak favorizující určité druhy |
| RFLP | dovoluje porovnání četností mezi skupinami | 1. významná intraspecifická variabilita, 2. nedostatečně specifické k odlišení druhů, 3. neschopnost kvantifikovat proporce každého člena mykobiomu |
| OFRG | | |
| DGGE | | |
| <i>In situ</i> hybridizace | | |
| Přímé sekvenování zaklonovaných PCR produktů | dostatečná specifita pro rozeznání druhů | finančně nákladné |
| Pyrosekvenování | | 1. limity metody při rozlišování homopolymerních úseků sekvencí, 2. neschopnost odlišit environmentální kontaminace |

Využití kapilární elektroforézy pro sekvenování je jednou z metod, které umožňuje přesnější identifikaci, ale je ovlivněno amplifikačním zkreslením. Oproti tomu pyrosekvenování pokryje více sekvencí bez zkreslení, ale produkuje kratší sekvence (Turnbaugh et al. 2006). Metoda s vysokou efektivitou je kvantitativní PCR (q-PCR), která je výrazně citlivější než klasická PCR nebo izolační a kultivační metody. Některé na kultivaci pozitivní vzorky se analýzou q-PCR jeví negativní. Zřejmě protože určité kultivační podmínky obohacují druhy, které se ve vzorku vyskytují v tak nízké koncentraci, že jsou pod rozlišovacím limitem přístrojů (Guo et al. 2010). Jako ideální se tedy jeví kombinovaný přístup k analýze využívající jak kultivačních, tak molekulárních metod (Gouba et al. 2013).

Samotný odběr vzorků je samozřejmě další důležitou částí metodologie. Například výplachové vzorky ústní dutiny (Ghannoum et al. 2010) se po prvotních pokusech se stěry plaku dásní (Aas et al. 2007) jeví jako výrazně efektivnější metodologie. Také není jisté, jak moc je vhodné užívat fekálních vzorků,

jako reprezentativního materiálu pro střevní mykobiom. Je dokumentované, že oproti endoskopicky odebraným vzorkům vykazují vyšší podíl kvasinek a plísní (Ott et al. 2008). Na druhou stranu během bioptického odběru a následné fixace tkáně může dojít k nechtěnému odstranění povrchového mycelia i dalších houbových forem důležitých pro detekci (Kodsi et al. 1976). A roli samozřejmě hrají i specifika určitých rodů. Například důkladné třepání spolu s keramickými kuličkami je nezbytné k rozbití tlusté buněčné stěny umožňující detekci deoxyribonukleové kyseliny (DNA) kvasinek rodu *Malassezia* (Dupuy et al. 2014).

Protože DNA přežívá průchod trávicím traktem, nelze zcela odlišit, které sekvence jsou druhů transientních a kteří zástupci jsou trvalými kolonizátory trávicího traktu. K odlišení nutriční kontaminace by mohlo sloužit použití rRNA, kdy by byla detekována jen aktivně metabolizující část společenstva (Rajala et al. 2011).

Nejčastěji používaným modelem ke studiu střevní mikroflóry, její interakce s imunitním systémem, vlivem na rozvoj nemoci a metabolismus léčiv je myší model (Scanlan a Marchesi 2008). Obvykle je také využíváno gnotobiotických myší, které poskytují náhled na celkový efekt mykobiomu (Mason et al. 2012a). Houbové organismy byly pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) detekovány za přítomnosti fekálií v terminálním úseku tenkého střeva, ve slepém střevě a přední části tlustého střeva, kde tvořily v průměru pouze 2 % (0-10% výskyt) celkové biomasy biofilmu. Tato metoda je neocenitelná pro morfologické určení struktur, ale vzhledem k jejím technickým limitům (Kempf et al. 2000) může být toto číslo nadále podhodnocené až o 50-70 % (Scupham et al. 2006).

3. Trávicí trakt

Stěna trávicí trubice má od dolní třetiny jícnu prakticky jednotnou stavbu. Vnitřní povrch vystýlá sliznice, pod níž je rychle regenerující vrstva epitelu, který je v žaludku a ve střevě cylindrický, v ostatních částech plochý s četnými hlenovými a sekrečními buňkami. Další vrstvou je vmezeřené vazivo s hojnými krevními a mízními cévami spolu se shluky mízní tkáně. To je uzavřené do tenké vrstvy hladké svaloviny, která přispívá k řasení sliznic žaludku a tenkého střeva.

Ústní dutina tvoří malými i velkými slinnými žlázami vodnatě hlenovitý sekret, sliny, které obsahují antibakteriálně působící lysozym, slinné imunoglobuliny A, lactoferin, peroxidázy, histaminy rozpuštěné ionty, alfa-amylázu a některé odpadní látky. Následuje nálevkovitý hltan a trubicovitý jícen, ústící do vakovitého žaludku. Jednotlivé buňky sliznice žaludku jsou spojeny těsnými spoji a obsahují hojné žlázy, které produkují žaludeční šťávu. Shluky mízní tkáně jsou součástí protiinfekčních mechanismů stejně jako šťáva složená z kyseliny chlorovodíkové, hleny a hydrogenuhličitanu. K rozvinutí a udržení bariéry je třeba dokonalé prokrvení stěn trávicí trubice, které zajišťuje produkci místních tkáňových hormonů a prostaglandinů. Dále zmiňme přídatné trávicí žlázy, slinivku břišní a játra. Játra zneškodňují mikroorganismy především pomocí fagocytujících Kupfferových buněk, které jsou přichycené ke stěnám sinusů a jsou součástí jaterního makrofágového

systému. Následuje tenké střevo dlouhé 3-4m , skládající se z dvanáctníku, lačníku a kyčelníku. Výstelku tenkého střeva tvoří cylindrické buňky několika typů a funkcí, pro naše potřeby zmiňme tvorbu hlenu, produkci střevní šťávy, antimikrobiálních látek a fagocytózu. Sliznice vybíhá v klky buňkami s kartáčovým lemem a spolu se slizniční vrstvou jsou řaseny v kruhové řasy. Poslední částí trubice je tlusté střevo, které je přibližně 1,5 m dlouhé a tvoří ho slepé střevo, tračník vzestupný, příčný a sestupný, esovitá klička a konečník. Šťáva tlustého střeva obsahuje hlen se slabě zásaditou reakcí vhodnou pro saprofytické bakterie (Merkunová a Orel, 2008).

Hlavní funkcí trávicí trubice je zajištění lidského metabolismu, na který je však vhodné pohlížet jako na supraorganismální. Bylo prokázáno, že mikrobiální kolonizace trávicího traktu může být považována za další z metabolických orgánů. Štěpí pro nás nestavitelné rostlinné polysacharidy, což má za důsledek zvýšený příjem monosacharidů z lumenu a jaterní lipogenezi (Bäckhed et al. 2004), ale role hub je zatím nejasná. Udržování obranné bariéry v trávicí trubici je absolutním základem pro zdraví a přežití jedince (Spencer et al. 2014). Trávicí obtíže se týkali například 69 % americké populace a jsou tak skutečně součástí našich každodenních životů (Drossman et al. 1993).

Na specifické prostředí trávicího traktu se adaptovala pouze malá část houbové diverzity. Toto prostředí je unikátní stabilní vysokou teplotou, vlhkostí, nízkou hladinou kyslíku a vysokou úživností. Jednotlivé druhy musí mít geny kódující toleranci k pH, žluči, nízkým až žádným koncentracím kyslíku, jsou tak anaerobní či mikroaerofilní a vzdálení svým volně žijícím příbuzným. Úspěšně tak často osidlují širokou škálu hostitelů. Gastrointestinální podmínky působí inhibičně vůči sexuálnímu rozmnožování hub (Wang et al. 2012).

4. Mikrobiom trávicího traktu se zaměřením na mykobiom

Termín mykobiom byl etablován v roce 2010 k odlišení houbové bioty od bakteriální (Ghannoum et al. 2010), která je v literatuře často označována termínem mikrobiota, běžně označujícím také celkovou komunitu mikroeukaryotních organismů, bakterií, virů a archeí. Mikromycety tvoří méně zastoupenou (Qin et al. 2010) ale velmi diverzifikovanou komponentu lidského mikrobiomu (Gouba et al. 2014), kdy stabilní složka mykobiomu je charakterizována jako organismy, které se vyskytují u více než 20 % subjektů (Mukherjee et al. 2014).

Trávicí soustava je obývána komplexní mikrobiální komunitou, jejíž členové spolu interagují pomocí predace, kompetice a mutualismu. Také jsou ovlivňovány a sami ovlivňují imunitní systémem hostitele. Tato křehká a současně dynamická rovnováha se zřejmě vyvinula během tisíců let vzájemné koevoluce. Bakteriální složka je tak pro pojednání o mykobiomu neopomenutelná, neboť vzájemná interakce těchto složek má dramatický efekt na jejich diverzitu, četnost, reakci imunitního systému, případnou patogenezi i citlivost k léčbě (Cui et al. 2013). Diverzita houbové a bakteriální složky trávicího traktu má inverzní povahu (Kühbacher et al. 2006). Je velmi interindividuálně variabilní a

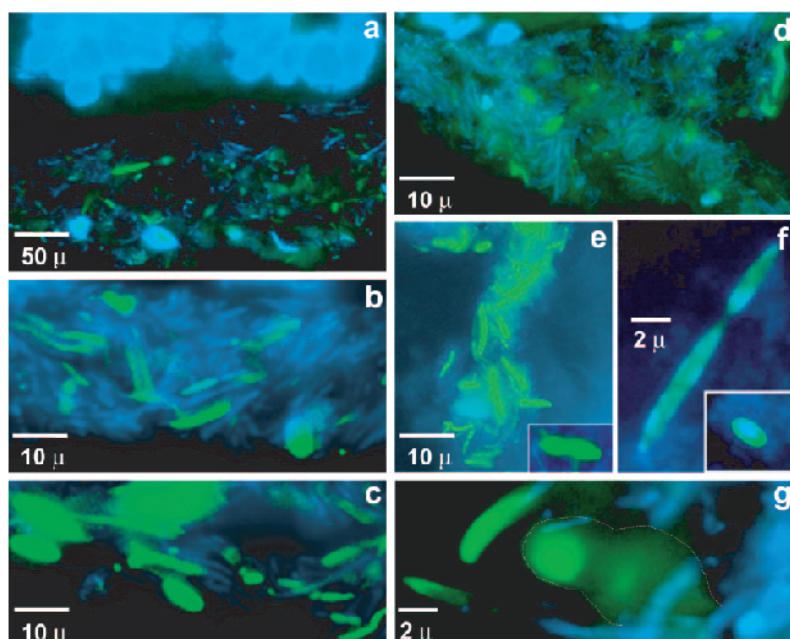
intraindividuálně stabilní (Monteiro-da-Silva et al., 2014, Ott et al., 2007, Kühbacher et al., 2006). Mikroorganismy v těle člověka tvoří kombinované biofilmy, které znázorňuje Obrázek 2, kde vidíme kolonie hub vmezežené mezi výrazně početnější bakteriální složku. Morfotypy se různí od vláknitých, malých i velkých vejcovitých přes vřetenovité až po silné tyčovitě (Scupham et al. 2006). Komunita mikroorganismů je přichycená k epitelu a uzavřená v extracelulární polymerické hmotě, která je chrání před nepříznivým prostředím i imunitním systémem (Schulze a Sonnenborn 2009). Stabilita mikrobiomu je na schopnosti adherovat silně závislá. Pokud by buňky neadherovaly, byly by pouhou součástí neustále se pohybující masy tráveniny, hlenu a št'áv.

5. Imunitní odpověď vůči houbám

Prvotní interakce mezi mykobiomem a receptory přirozené imunity rozhoduje o tom, jestli daný organismus indukuje protektivní imunitní odpověď anebo bude tolerován. Obrázek 3.

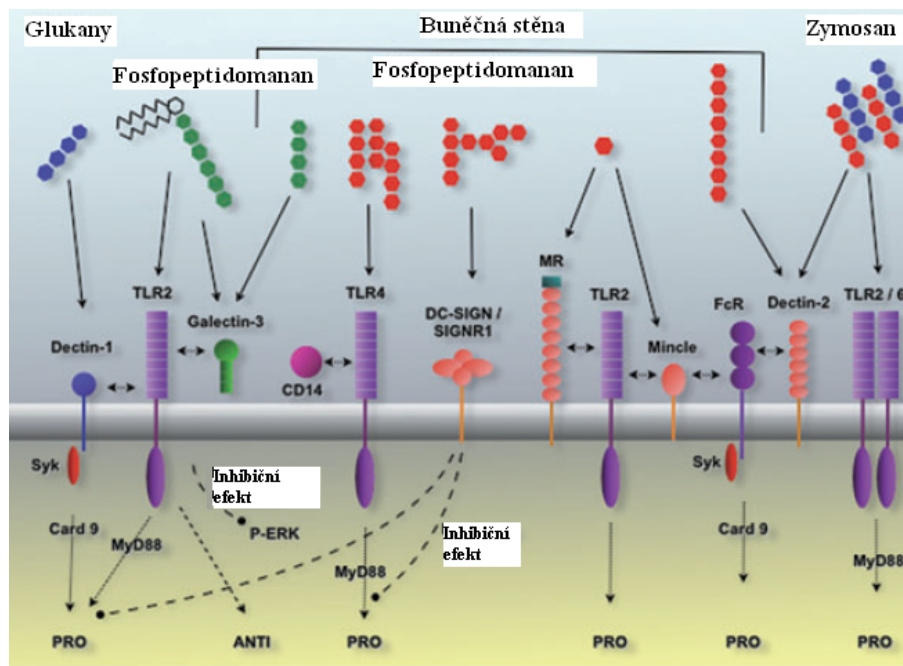
Některé houby umí využít této interakce tak, že spuštěním unikátní reakce těchto receptorů indukují protizánětlivé mechanismy

hostitele, které jim umožní kolonizaci. Podobně jako v případě ostatních mikrobů jsou i v případě mikromycet pro tuto interakci nezbytné receptory rozpoznávající molekulární vzory (PRRs), které rozpoznávají konzervované molekulární struktury, jako jsou chitin, manan, β -glukany, zymosany, β -oligomanosidy, DNA a RNA, které jsou také označovány jako molekulární vzory asociované s mikroby (MAMPs). Detekci zajišťují lektinové receptory C-typu (CLRs), receptory podobné Toll (TLRs), receptor typu NOD, NLRs, (Chen 2014), rodina galektinových proteinů, receptory podobné genu indukovanému kyselinou retinovou, RLRs, a další. Všechny tyto receptory spouští intercelulární signální kaskádu, která řídí přirozenou a adaptivní imunitu (Romani 2011). Typ odpovědi závisí na tom, jaká buňka a v jakém prostředí se dostala do kontaktu s MAMP. PRRs se totiž objevují na řadě hostitelských buněk včetně endotelních, epitelních, dendritických (DC) a prostředí kde se tyto buňky nachází, určuje jejich reaktivitu (Lebeer et al. 2010). TLRs a CLRs aktivují početné intracelulární mechanismy, které vedou k produkci defensinů, chemokinů, cytosinů, kyslíkových radikálů a jiných



Obrázek 2: FISH analýza mukózy. Malé sekce lumenu myššího slepého střeva byly hybridizovány proby pro houbovou malou podjednotku rRNA a fluorescenčně označeny pomocí DAPI. Převzato a upraveno z Scupham et al. (2006).

obraných látek. CLR s jsou centrální pro rozpoznání hub a indukcí přirozené imunitní odpovědi, která vede především k přímému zneškodnění patogenů fagocytózou, na které se podílí zejména makrofágy a neutofily. Dectin 1 je hlavní receptor rozpoznávající β -glukany, což je následováno ligací, která



PRO : Prozánětlivá odpověď
ANTI : Protizánětlivá odpověď
 ↔ : Vzájemná spolupráce

● β -glukany
 ● β -manany
 ● α -manany
 ~~~~~ části lipidů

Obrázek 3: Interakce mezi mykobiomem a imunitním systémem. Hlavní MAMPs interagující s PRRs. Převzato a upraveno z Jouault et al. (2009).

indukuje produkci pro a proti zánětlivých chemokinů. Dectin 2 rozeznává struktury bohaté na manózu a s vyšší afinitou tak váže hyfální formy. Vazbou s dalším receptorem indukuje uvolnění prozánětlivých cytosinů a leukotrienů. CLR s jsou také zásadními receptory, které vedou k vyžrávání DC a tím k prezentaci antigenů hub T-buňkám, které se

následně diferencují v pomocné lymfocyty. Následná adaptivní imunitní odpověď pak umožňuje specificky odstranit daný organismus a případně proti další infekci chránit (Romani 2011). Vzhledem k významu této interakce, myš, která nemá funkční dectin-1, je náchylnější k chemicky vyvolané kolitidě, protože není schopna efektivní imunitní odpovědi proti mikrobům, které při poškození pronikají do střevní stěny. Tato translokace vede dále k zesílení zánětu působící další poškození bariér střeva a translokaci dalších antigenů (Iliev et al. 2012).

## 6. Faktory ovlivňující diverzitu a četnost mykobiomu

Většina mykotických onemocnění je ovlivněna mimo jiné, viz Tabulka 2, také faktory jako je virulence daného kmenu, lokální obranné mechanismy mukózy, náchylnost hostitele (Mathieson a Dutta 1983) a resistance kmenu vůči účinným látkám léčiv (Wu et al. 2014). Zvýšené riziko infekce bylo dokumentováno pro krevní skupinu 0 i jedince s nedostatečnou sekrecí antigenů krevní skupiny (Burford-Mason et al. 1993).

Prodlužování věku dožití je v současnosti jasným trendem. Ve stáří čelí jedinec fyziologickým změnám, kupříkladu nárůstu křehkosti mukózy, snížení nestimulovaného průtoku slin, nižší produkci

žaludečních šťáv a menší výkonnosti imunity. Zároveň je třeba brát v potaz polymedikaci, souběh několika nemocí ve stejném čase, nezářidka nekvalitní náhrady typu zubní protézy a častou malnutrici. Je potřeba si také položit otázku, od kdy je člověk stár. Pro naše potřeby můžeme použít přelom 59. a 60. roku života, kdy prevalence kvasinek v dutině ústní činí rozdíl 5,3% (Wu et al. 2014).

Tabulka 2: Faktory ovlivňující diverzitu a četnost celkové mikrobiomu.

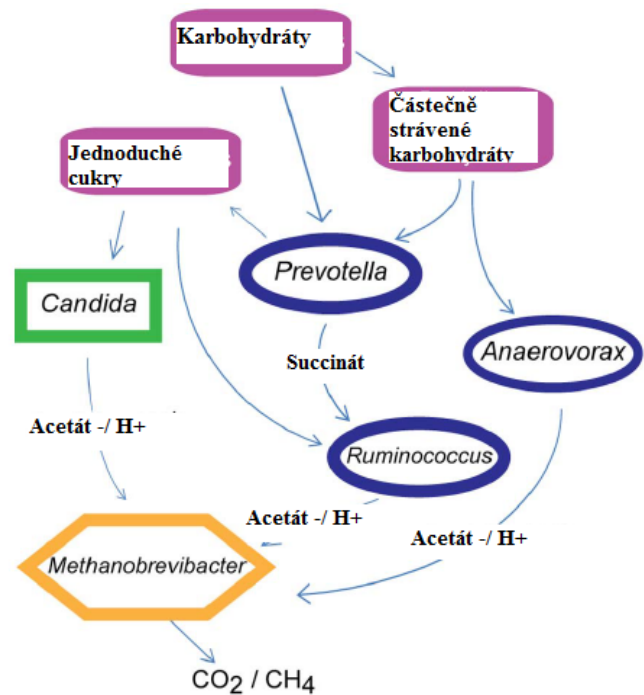
|                                      |                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>genotyp</b>                       | (Burford-Mason et al. 1993), (Secondulfo et al. 2001), (Iliev et al. 2012)                                                                                                                              |
| <b>věk</b>                           | (Koenig et al. 2011), (Wu et al. 2014)                                                                                                                                                                  |
| <b>rasa</b>                          | (Ghannoum et al. 2010)                                                                                                                                                                                  |
| <b>pohlaví</b>                       | (Angebault Cécilie et al., 2013)                                                                                                                                                                        |
| <b>imunitní systém</b>               | (Wu et al. 2014), (Mukherjee et al., 2014)                                                                                                                                                              |
| <b>souběžná onemocnění/koinfekce</b> | (Spencer et al. 2014), (Chen et al. 2011)                                                                                                                                                               |
| <b>závislosti</b>                    | (Vermeersch et al. 1989), (Peters et al. 1980)                                                                                                                                                          |
| <b>medikace</b>                      | (Vermeersch et al. 1989), (Mason et al. 2012a), (Noverr et al. 2004), (Kim et al. 2014)                                                                                                                 |
| <b>BMI</b>                           | (Ley et al. 2006), (Turnbaugh et al. 2006), (Gouba et al. 2013)                                                                                                                                         |
| <b>geografická poloha</b>            | (Wu et al. 2014)                                                                                                                                                                                        |
| <b>bydlení</b>                       | (Angebault Cécilie, Djossou Félix, Abélanet Sophie, Permal Emmanuelle, Soltana MB, Diancourt Laure, Bouchier Christiane, Woerther PL, Catzeflis Francois, Andreumont Antoine, d'Enfert Christophe 2013) |
| <b>hygienu</b>                       | (Xu a Mitchell 2003)                                                                                                                                                                                    |
| <b>složení stravy</b>                | (Hoffmann et al., 2013), (Koenig et al. 2011)                                                                                                                                                           |
| <b>expoziční mikrobům</b>            | (Angebault et al., 2013)                                                                                                                                                                                |

Orální prevalence *Candida* dosahuje u seniorů až 80% (Li et al. 2012a). S nárůstem podílu *Candida* se snižuje diverzita bakteriálního mikrobiomu a dominují mu *Bacilli* (*Streptococcus* a *Lactobacillus*) a *Rothia* (Kraneveld et al. 2012), kteří jsou schopni získat výhodu v kyselejších prostředí (Klinke et al. 2009). Opačný efekt, tedy snížení četnosti rodů *Streptococcus* a *Rothia*, byl asociován s prekarcinomy a vznikem rakoviny ústní dutiny (Schmidt et al. 2014). Otázkou zůstává, co nastává jako první. Zda přemnožení *Candida* a následná acidifikace, anebo je acidifikace primárním faktorem plynoucím z vysychání ústní dutiny a vysokého podílu karbohydrátů v dietě (Hoffmann et al. 2013), které starší osoby hůře metabolizují (Kraneveld et al. 2012). Rod *Lactobacillus* je spíše znám jako probiotický, to se však váže k jeho působení v žaludku. *Lactobacillus casei* stimuluje klíčení *Candida* ve formě blastospor, čímž výrazně zvyšuje její virulenci (Nair et al. 2001). Senioři s přirozeným chrupem se vyznačují vyšší bakteriální diverzitou ve vzorku, což působí protektivně vůči přemnožení hub (Kraneveld et al. 2012). Li et al. (2012a) prokázal, že jedinci s více než  $10^5$  jednotek tvořících kolonie (CFU), což je hodnota obecně považovaná za patologicky významnou (Zwolińska-Wcisło et al. 2001), mají větší riziko prodělání zvýšené tělesné teploty (nad 37,5° C) na více než 7 dní za rok. Této hodnoty dosáhlo 12 % seniorů. Nejčastěji identifikované non-*albicans* druhy korelující se stavem zvýšené teploty byly *C. glabrata* a *C. tropicalis*. Tento vztah byl podmíněn celkovým rozrůstáním populací mimo *C. albicans*. Kromě již dříve zmíněných rizikových faktorů ke vzniku oportunní

houbové infekce zde byly prokázány další korelující s výskytem horečnatého stavu a to: úroveň fyzické aktivity, stádium demence a problémy s polykáním. S věkem narůstá i pravděpodobnost kolonizace žaludečního vředu mikromycety (Wu et al. 1995).

## 6.1 Vliv diety na střevní společenství

Strava bohatá na aminokyseliny (AK), živočišné tuky a cholin korelovala s abundancí rodu *Bacterioides* (Wu et al. 2011). Tento rod byl negativně korelován jak s rodem *Methanobrevibacter*, tak s rodem *Candida*. Zatímco vysoká četnost *Candida* byla vázána především na nedávnou konzumaci karbohydrátů, pro *Methanobrevibacter* byl významný dlouhodobý i krátkodobý pohled na dietu. Rod *Aspergillus* byl negativně korelován s množstvím krátkých MK v recentní stravě. Významná syntropická gilda je tvořena rody *Candida*, *Prevotella*, *Ruminococcus* a *Methanobrevibacter*, jimiž zprostředkovaný cyklus živin ve



Obrázek 4: Možná entropie ve střevě. Převzato a upraveno z Hoffmann et al. (2013).

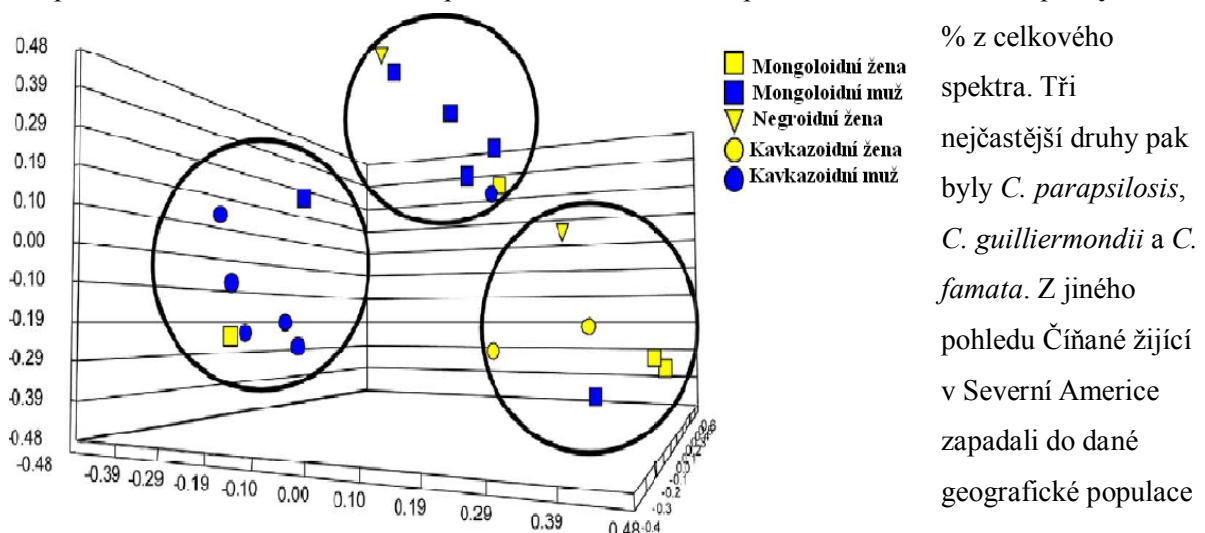
střevě vidíme na Obrázku 4. Vzorky v nichž nebyla detekována žádná Archea, nebo se tam vyskytovala *Nitrosphaera* byly většinou obohaceny o polynenasycené MK a tuky obsažené v zelenině. *Nitrosphaera* byla detekována v 16 % vzorků, ale v poměrně nízkých koncentracích. Její role však může být nedoceněna, neboť díky oxidaci amoniaku a degradaci močoviny zprostředkuje dusík mikrobiální komunitě střeva (Hoffmann et al. 2013). *Methanobrevibacter* produkuje metan zpracováním volného  $H_2$  vznikajícího jako vedlejší produkt katabolismu bakteriální fermentace. *Methanobrevibacter*, *Prevotella* (Wu et al. 2011) a *Candida* byly pozitivně korelovány s dietou bohatou na karbohydráty a negativně s dietou bohatou na AK, proteiny a MK (Hoffmann et al. 2013). Složení stravy je dynamickým faktorem, který utváří imunitní odpověď mukózy. Jeden z mechanismů jsou chemokininové receptory makrofágů pohlcující rozpuštěné antigeny z potravy ve střevním lumen, které rychle předávají dendritickým buňkám, jež je dále prezentují a způsobují tím diferenciaci T regulačních buněk, které indukují orální toleranci (Mazzini et al. 2014). Ta umožňuje, abychom byli opakovaně vystaveni působení antigenů z potravy, aniž by vznikla nepřiměřená imunitní reakce (Mowat 2003).



## 6.2 Závislost mykobiomu na pohlaví, rase a geografickém členění

UniFrac analýzou, která propočítává fylogenetickou vzdálenost komunit, bylo zjištěno, že se kavkazoidní a mongoloidní muži seskupují odděleně, zatímco ženy všech rasových typů jsou sloučeny v jedné skupině. Detaily jsou zachyceny na Obrázku 5. To naznačuje trend jisté rozdílnosti orálního mykobiomu v závislosti na pohlaví a rase i přes život ve stejném regionu a podobnost stravování (Ghannoum et al. 2010). Kavkazoidní jedinci také oproti jiným rasám méně často trpí na dyspepsii a zácpu. Rozdíly byly pozorovány i napříč regiony. Jižní část Spojených Států byla více postižena pyrózou a aerofágií, Severozápad byl méně často postižen bolestí abdomenu a Středozápad průjmem. Ženy častěji trpí na tlak v krku, bolest na hrudi, dysfagii, dráždivý tračník (IBS), zácpu, bolesti žlučníku a dyscházii. Muži pak na aerofágii a nadýmání (Drossman et al. 1993).

V čínské studii bylo dokonce prokázáno, že se tři různé geografické populace výrazně lišily v distribuci druhů rodu *Candida*, kdy jedna z nich měla zvýšenou kolonizaci druhem *Candida glabrata* (43,7 %) (Wu et al. 2014). Jiná analýza poukázala na vyšší kolonizaci ústní dutiny spolu s vyšší druhovou diverzitou u čínské populace oproti severoamerické. Dalším rozdílem byl markantně nižší podíl druhu *C. albicans*, která se prevalencí umístila až na pátém místě a tvořila tak pouhých 9,4



Obrázek 5: Analýza hlavních komponent ukazující distribuci houbových rodů v orálních vzorcích zdravých jedinců různých ras. Převzato a upraveno z Ghannoum et al. (2010).

hygiena. Čištění zubů není běžné ve dvou z pěti testovaných komunit v Číně. V nich byla také nejvyšší celková kolonizace. Ve fekálních vzorcích komunity Wayampi Amerindian žijící ve Francouzské Guyaně byly nejčastěji, ve více než 30 %, detekovány druhy *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida krusei*. Tyto jsou zřejmě environmentálního původu. *Candida albicans* byla izolována jen v 3 % a to častěji u žen a jedinců žijících v přeplněných domácnostech (Angebault et al., 2013). Výsledky, které máme od izolovaných komunit žijících tradičním způsobem, mohou odrážet prapůvodní asociace a naznačovat tak, že *C. albicans* možná není komenzálem, který se s člověkem vyvíjel během věků, ale vesměs nedávno introdukovaný druhem, který byl všeobecným příjetím západního životního stylu vyselektován v dominantní organismus (Xu a Mitchell 2003).

## 7. Mykobiom a mikrobiom ve zdraví

### 7.1 Horní aerodigestivní trakt

Ghannoum et al. (2010) byl první kdo charakterizoval zdravý orální mykobiom. Ve výsledku identifikoval 85 rodů a 101 druhů, kdy rod *Aspergillus* byl zastoupen dokonce šesti druhy, *Candida* pěti, *Cladosporium* čtyřmi, *Fusarium* i *Penicillium* po třech. Účastník byl kolonizován 9 - 23 kultivovatelnými druhy. U 70 % bylo detekováno více než 10 rodů. 39 rodů bylo izolováno pouze z jednoho jedince. Druhy rodu *Candida* byly zastoupeny nejčastěji, a to u 75 % testovaných, následovalo *Cladosporium* s 65 %, *Aureobasidium* a *Sacharomycetales* s 50 %, *Aspergillus* 35 %, *Fusarium* 30 %, *Cryptococcus* 20 %. *Cladosporium cladosporioides* mělo nejčastější výskyt, 50 %, u 40 % byla určena *Candida albicans* a u 30 % *Saccharomyces cerevisiae*. Non-*albicans* druhy rodu *Candida* měly taktéž vysokou prevalenci, 15 % pro *C. parapsilosis* a *C. tropicalis*, 5 % pro *C. khmerensis* a *C. metapsilosis*.

Tabulka 3:  
Porovnání hlavních studií zdravého orálního mykobiomu. Druhy stabilní složky. Převzato a upraveno z Dupuy et al. (2014).

| (Dupuy et al. 2014)                    | (Ghannoum et al. 2010)   | (Monteiro-da-Silva et al. 2014) |
|----------------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| <i>Candida/Pichia</i>                  |                          |                                 |
| <i>Cladosporium/Davidiella</i>         |                          |                                 |
| <i>Alternaria/Lewia</i>                |                          |                                 |
| <i>Aspergillus/Emericella/Eurotium</i> |                          |                                 |
| <i>Fusarium/Gibberella</i>             |                          | <i>Rhodotorula</i>              |
| <i>Cryptococcus/Filobasidiella</i>     |                          | <i>Trichoderma</i>              |
| <i>Aureobasidium</i>                   |                          | <i>Scedosporium</i>             |
| <i>Malassezia</i>                      | <i>Saccharomyces</i>     | <i>Rhizopus</i>                 |
| <i>Epicoccum</i>                       | <i>Saccharomycetales</i> | <i>Penicillium</i>              |
| <i>Irpex</i>                           | <i>Dothioraceae</i>      |                                 |
| <i>Cytospora/Valsa</i>                 | <i>Teratosphaeria</i>    |                                 |
| <i>Phoma</i>                           | <i>Glomus</i>            |                                 |
| <i>Lenzites</i>                        |                          |                                 |
| <i>Sporobolomyces</i>                  |                          |                                 |

Dupuy et al. (2014) tento výčet druhů

rozšířila o rody *Malassezia*, *Epicoccum*, *Irpex*, *Cytospora/Valsa*, *Phoma*, *Lenzites* a *Sporobolomyces/Sporidiobolus*. Rod *Alternaria/Lewia* zde byl izolován ze 100 % vzorků, zatímco v práci Ghannoum et al. (2010) byl detekován jen u 15 %. *Malassezia* zde byla detekována poprvé ve zdravém orálním mykobiomu a dokonce, jako nejhojnější rod následován *Epicoccum*, což bylo překvapivé vzhledem k dosavadní definici rodu jako dominantního a vysoce adaptovaného komenzála a oportunního patogena kůže. Dříve byl identifikován ze stolice z tropického pásma (Hamad et al. 2012), z orálního mykobiomu institucionalizovaných seniorů s 20% prevalencí (Li et al. 2012a) a z orální dutiny psů (Yoshikawa 2008) odkud přenesena na novorozence způsobuje závažné infekce (Chang et al. 1998). U seniorů lze její přítomnost vysvětlit přesušováním mukózy ústní dutiny, ale pravděpodobnější je souvislost této lipolytické houby s lipidovými emulzemi, které dostávají senioři i nedonešené děti jako součást diety. Monteiro-da-Silva et al. (2014) nejčastěji izolovali druhy, které se

částečně shodují s dříve publikovanými výsledky. Za zmínku stojí *A. fumigatus*, který byl izolován ze 40 % účastníků, zatímco ostatní druhy *A. flavus* a *A. glaucus* sporadicky, *Rhodotorula*, rod který měl prevalenci 75 %, *Trichoderma* s 10 %, *Scedosporium* s 7,5 %, *Rhizopus* 2,5 %. Celková koncentrace hub byla v průměru 40,4 CFU/ml. Souhrnná Tabulka 3 srovnává všechny tři studie zdravého orálního mykobiomu.

Zdravý mykobiom je lokalizován pouze na povrchu mukózy. Prevencí vůči přemnožení může být snížení přísunu karbohydrátů a nahrazení dietou s dostatkem na arginin bohatých proteinů. Které mohou podpořit mikrobiotu posilující alkalicitu prostředí (Hoffmann et al. 2013). Dále užívání prebiotik, které zabraňují acidifikaci.

Mykobiom nosní dutiny má díky propojení s ústní dutinou podobný vzor distribuce, a je tak zřejmé vzájemné působení. U zdravých jedinců byla identifikována houbová mikroflóra ve 41,5 %.

Převažoval u ní průsvitný myceliální morfortyp. Pořadí nejhojnějších druhů pro zdravé i alergiky bylo: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* a *Alternaria*. U zdravých jedinců byl nejčastěji určeným rodem *Cladosporium herbarum*. Výlučný výskyt pro zdravou mykoflóru byl zjištěn pro rody *Candida* a *Aureobasidium* (Sellart-Altisent et al. 2007). Studie z Blízkého Východu detekovala houby u 31 % i s rody *Streptomyces*, *Nocardia* a *Mucor* (Mianroodi et al. 2011). Další abundantní rod je *Malassezia*. Ve vzorcích zdravých i alergických jedinců se vyskytovala nejhojněji *M. restricta*, ale i *M. globosa* a *M. pachydermatis* (Jung et al. 2015).

Kultivačními metodami bylo zjištěno, že 37 % jedinců bylo pozitivních na přítomnost hub, i když se jícen jeví endoskopicky normální (Vermeersch et al. 1989).

Přes nevlídné prostředí žaludku, i on má svoji komunitu mikroorganismů. Nízké pH selektuje mikroorganismy tolerantní ke kyselému prostředí. Růst mikromycet byl detekován i při pH 1,4. *C. albicans* a *tropicalis*, nejčastěji detekované druhy, vykazují růst při pH 2, ale *C. lusitaniae* až od pH 3. Tyto výsledky mohou odrážet individuální nároky organismu na podmínky potřebné pro přichycení k mukóze. Důkaz, že hodnoty krevních protilátek vůči houbám nekorelují s množstvím detekovaných hub ani přítomností houbových antigenů, ukazuje na sekundární a pouze povrchovou povahu houbové kolonizace žaludku (Zwolińska-Wcisło et al. 2001). Dále byly detekovány *Helicobacter*, *Streptococcus*, *Prevotella* (Bik et al. 2006), *Lactobacillus*, *Candida* spp. a *Phialemonium*. Analýzou žaludeční tekutiny bylo získáno rozmezí 19 - 81 houbových operačně taxonomických jednotek (OTUs) na úrovni rodu (von Rosenvinge et al. 2013).

## 7.2 Spodní část trávicí trubice

Existuje mnoho paralel mezi bakteriálními a houbovými komunitami osidlujícími střevo. Houby tvoří  $10^6$  g<sup>-1</sup> exkrementu střevní mikrobioty zatímco bakterie  $10^{12}$  g<sup>-1</sup>, a tak je houbová diverzita často vysvětlována jako konsekvence nevyváženosti bakteriální mikroflóry (Li et al. 2014). Houby jsou spolu s *Blastocystis* dominantními eukaryoty střevního mikrobiomu zdravých jedinců. *Blastocystis*

je detekován s velkou genetickou diverzitou u 82 % testovaných vzorků (Scanlan a Marchesi 2008). Tento obligátní anaerob je potenciálně patogenní v závislosti na subtypu (Tan et al. 2006). Celkově bylo dokumentováno 66 rodů hub, které obecně vykazovaly vzájemnou exkluzivitu mezi odděleními Ascomycota a Basidiomycota. V 89 % vzorků byl detekován rod *Saccharomyces*, 57 % *Candida*, 42 % *Cladosporium*. Opakované výsledky sekvenace hub odhalily také druhy *Gloeotinia tremulenta*/*Paecilomyces fumosoroseus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* a rod *Galactomyces* (Hoffmann et al. 2013). Identifikováni byli i přechodní kolonizátoři: *Psathyrella candolleana*, *Aspergillus versicolor*, *Ceratobasidium* spp., *Cephalosporium* spp (Scanlan a Marchesi 2008).

Některé mikroskopické houby jsou označovány jako probiotika, tedy benefiční pro lidský organismus. Mezi ně patří *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, který byl původně izolován pro boj s Cholerou a již od roku 1950 je používán jako lék proti průjmům. Má podpůrný vliv na bakteriální mikroflóru střev, což je následováno poklesem diverzity mykobiomu (McFarland a Bernasconi 1993). I jeho podávání však může představovat určitá rizika v prostředí jednotek intenzivní péče (Cassone et al. 2003). Ze skupiny Archea byl nejčastěji, ve 30 % vzorků, detekován rod *Methanobrevibacter smithii*, jenž je pozitivně asociován k oběma nejhojněji zastoupeným houbovým rodům. Tento druh byl v převážné většině vzorků vzájemně vylučný s rodem *Nitrosphaera*, který je naopak negativně asociován s rody *Candia* a *Saccharomyces* (Hoffmann et al. 2013)

## 8. Změněný mikrobiom se zaměřením na mykobiom

Nejčastější patogenní rody, jako *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* a *Cryptococcus* se vyskytují i v mykobiomu zcela zdravých jedinců (Dupuy et al. 2014, Ghannoum et al. 2010). Je však pravděpodobné, že tato kolonizace predisponuje doposud zdravého jedince k oportunní infekci, která propukne v období disbalance jinak křehce udržovaných vzájemných vztahů znázorněných na Obrázku 6.

Sukcese mykobiomu je pozorovatelná po alogenní transplantaci střeva. Po zákroku byla diverzita mykobiomu střeva i stolice krátkodobě zvýšena, kdy se vyvíjel nový ekosystém jako důsledek dekontaminace po zákroku a transplantace mikrobiomu dárce. V časném stádiu tak byly detekovány druhy *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus clavatus*, *Trichophyton verrucosum*. Během rekonvalescence se pak diverzita snižovala, až byli pacienti kolonizováni dominantními druhy *Saccharomyces cerevisiae* a *Lachancea waltii*. V raném stádiu byly detekované především formy kvasinkovité a spory, později i vláknité (Li et al. 2012b).

## 8.1 Vzdálený vliv

### lokálního společenstva

Jednotlivé lokace mykobiomů nejsou izolované. Změny v mikrobiálním společenstvu mohou způsobit lokální onemocnění, ale díky propojenosti organismu je prokázán i vliv na zdánlivě nesouvisející orgány a systémy. Je zřejmé, že mykobiomy, které jsou si fyzicky bližší, budou podobnější. Jedním z příkladů jsou rody *Cladosporium*,

*Aspergillus* a *Penicillium* dominující ústní i nosní dutinu. Velmi pozoruhodný je nejčastější výskyt druhu *Cladosporium cladosporioides* ve zdravé ústní dutině a zároveň v nosní dutině alergiků (Ghannoum et al., 2010, Sellart-Altisent et al. 2007).

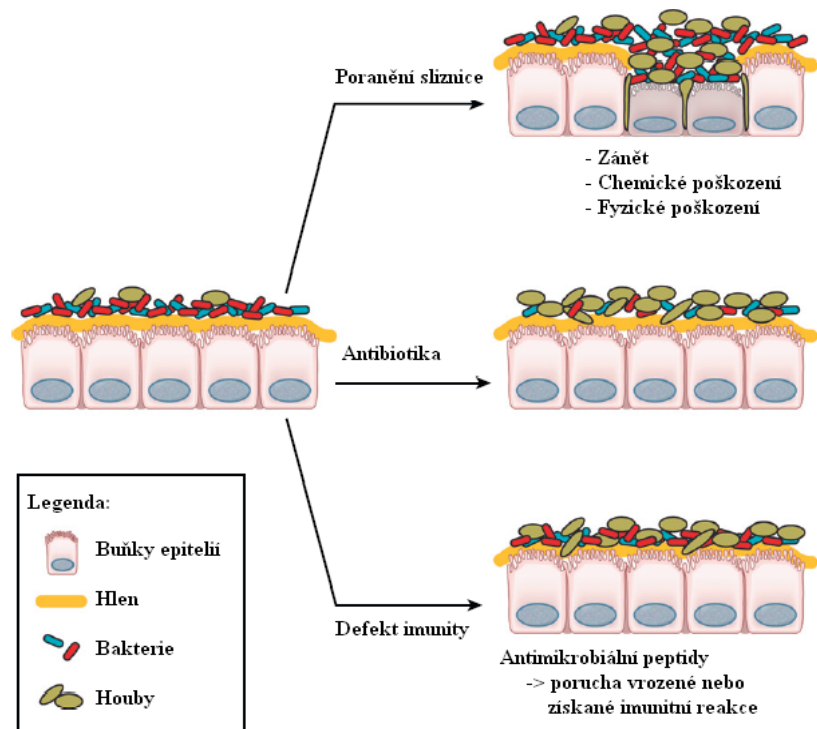
Nemoci jako ateroskleróza (Koren et al., 2011, Ott et al., 2007), obezita (Gouba et al. 2013), virová hepatitida B (HBV) (Chen et al. 2011), lupénka (Waldman et al. 2001), atopický ekzém (Yamaguchi et al. 2006), Rettův syndrom (Strati et al. 2014) a další jsou spojovány se změnou mikrobiálního a zároveň houbového společenstva.

Hlavním uzlem tohoto působení jsou dendritické buňky Peyerových plátů, útvarů obsahujících nahromaděnou lymfatickou tkáň ve sliznici střeva, které mohou modulovat odpověď lymfocytů na jiných lokalitách. Nejlépe je zatím probádána interakce gastrointestinální-respirační.

Je prokázáno, že myš po antibiotické léčbě je více náchylná na alergickou reakci dýchacích cest.

Příčinou je změna fenotypu alveolárních makrofágů na M2, k čemuž dochází kvůli různému stupni přemnožení hub ve střevě, jehož následkem se zvýší hladina sérového prostaglandinu E<sub>2</sub>. Na myším modelu byla testována reakce na inokulaci izolátem *Candida parapsilosis* z trusu jedince léčeného antibiotiky do myši, která tento druh vůbec neměla. Inokulace zvýšila její náchylnost vůči alergennímu zánětu dýchacích cest (Kim et al. 2014). Téměř shodným případem je narušení střevního mykobiomu přemnožením *C. albicans*, které má vliv na *A. fumigatus* indukované alergické plicní onemocnění (Noverr et al. 2004).

Role mikrobiomu střeva v imunitní odpovědi je také nezastupitelná při kritických, život ohrožujících událostech. Jedním z příkladů jsou rozsáhlé popáleniny. Zatímco zvyšující se prevalence patogenních



Obrázek 6: Mechanismy přemnožení mykobiomu, které může způsobit nemoc. Převzato a upraveno z Huffnagle a Noverr (2013).

rodů *Pseudomonas* a *Candida* se u přeživších na určité úrovni zastavila a opět klesla, u pacientů, kteří i přes lékařskou péči následkům podlehlí, se přemnožení stále zvyšovalo. *Bifidobacterium* prošlo opačným trendem. Krátké mastné kyseliny propionová a máselná se v průběhu hospitalizace nejprve snížily pod normální hodnoty, ale později se u přeživších zase navýšily (Shimizu et al. 2014). Změněné podmínky střeva jako je hypoperfuze, zvýšená permeabilita a apoptóza epithelií i zranění samotné, způsobují vylití mediátorů zánětu do tělní cirkulace přes mezenterální lymfatické uzliny (Ramzy et al. 2000), což může vést až k systémovému zánětu. Ten v takovýchto situacích běžně nastává a může vyústit až ve vícečetné selhání orgánů (Shimizu et al. 2014).

Ateroskleróza je degenerativní onemocnění cév, kdy se cholesterol akumuluje ke stěnám tepen. Důsledkem může být cévní mozková příhoda nebo infarkt myokardu, které často končí smrtí, a je tak jednou z nevýznamnějších nemocí ve vyspělém světě. Zvýšený C-reaktivní protein (CRP) je markerem progresu choroby. Jde o kombinované zánětlivé a metabolické onemocnění. Komplexní podstata a individuální mechanismy mikrobiální kolonizace plaku bez obecného vzoru a shoda s taxony kolonizujícími trávicí trakt naznačují obecné oslabení bariér, translokaci a transientní fungemii bez manifestace. Kolonizace aterosklerotických lézí může také být sekundární pro lokální zánět, což podporují lokální makrofágy a systémové monocyty (Dörffel et al. 1999), které mohou zároveň samy sloužit jako prostředek pro transport mikroorganismů pomocí fagocytózy (Ott et al. 2007). Sekvenací vzorků z aterosklerotických plaků nebo pomocí FISH byla houbová DNA detekována u 92,11 % pacientů s ischemickou chorobou srdeční. Celkovou diverzitu tvořilo 19 fylogrup. Většina sekvencí byla unikátních a jen menší část byla početná. Většina OTU byla reprezentována rody *Yarrowia* spp. (57,2 %), *Candida* (15,6 %), *Cryptococcus* (4,1 %), *Gibberella* (4,4 %) a *Rhodosporium* (4 %) (Ott et al. 2007). Bakteriální DNA byla přítomna ve všech vzorcích plaků a její množství korelovalo s tammím množstvím leukocytů. Ve všech vzorcích byla identifikována *Pseudomonas luteola*, jejíž přítomnost nebyla detekována ani v ústních ani ve střevních vzorcích, a ve většině i *Veillonella* a *Streptococcus*, jejichž kombinovaná abundace v plaku korelovala s jejich četností v ústní dutině. Orální abundace *Streptokoků* prokazatelně pozitivně koreluje s hladinou nízkodenzitního lipoproteinu a apolipoproteinu A-I, což jsou dva markery pro kardiovaskulární onemocnění. To naznačuje, že patobiologie aterosklerotického plaku by mohla být shodná s dentálním plakem. Ačkoliv hlavní faktory vzniku jsou všeobecně známé, tak v některých studiích je na aterosklerózu pohlíženo jako na polymikrobiální infekci charakteristickou několika klíčovými členy potřebnými pro její iniciaci (Koren et al. 2011). Jedinci postižení lupénkou jsou výrazně častěji kolonizováni rodem *Candida*. Rozdíl činí 28 % pro vzorky slin a 26 % pro stolici. Daný rod se také vyskytuje ve vyšších koncentracích, a to s predominancí druhů *C. albicans* a *C. rugosa*. Tyto výsledky podporují hypotézu, že *C. albicans* může být jedním ze spouštěcích a udržovacích faktorů nemoci (Waldman et al. 2001). Ve vzorcích stolice byly kvasinky detekovány u 70 % atopiků, 68 % psoriaticů a 54 % kontrol. Významný byl rozdíl pro druh *Geotrichum candidum*, který byl detekován u 10; 22 a 3 % postupně dle kategorií výše.

Rozdílná byla i detekce klíčních hyf, která činila 28; 38 a 22 % (Buslau et al. 1990). Také byla zkoumána souvislost mezi změnou ve střevním mykobiomu a neurodegenerativním onemocněním. Rettův syndrom je spojován s významně menší prevalencí *C. albicans* a vyšším výskytem *S. cerevisiae* spolu s *Trichosporon* spp. Hypotéza je taková, že přemnožení určitého rodu může vést k redukcí kynureninu, který funguje neuroprotektivně (Strati et al. 2014).

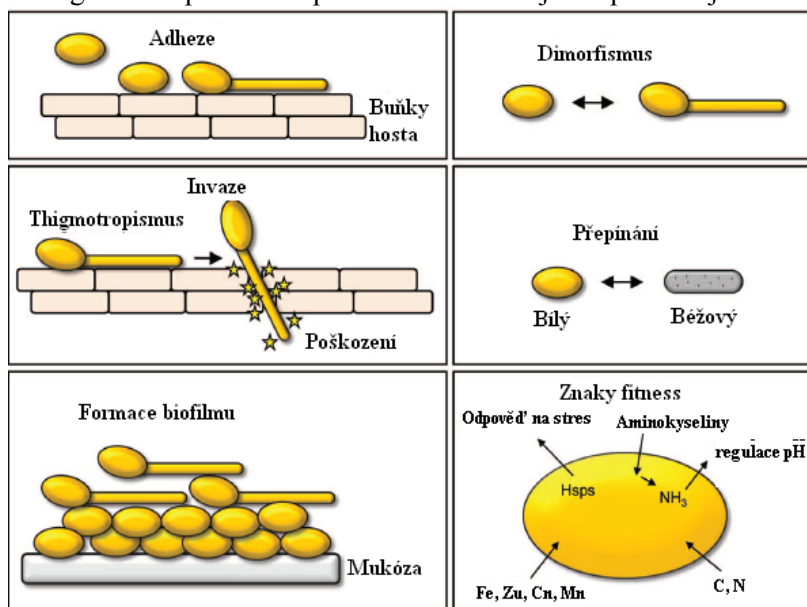
Stupeň disbalance mykobiomu detekovaného z fekálních vzorků do určité míry koreloval s rozsahem HBV. Prevalence houbových druhů stabilní mykoflóry byla ve fekálních vzorcích těchto pacientů mnohem vyšší. Zvýšená byla četnost *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* a *S. cerevisiae*. Jedinci s poruchou jater mají menší schopnost regulovat uspořádání jejich intestinální mikrobioty (Guo et al. 2010).

## 8.2 *Candida* spp.

Ve studii sledující výskyt rodu *Candida* byla polovina testované skupiny kolonizována na více než jednom místě těla. Většinou jsou tyto izoláty zcela nepříbuzné, ale někdy jde o podobné kmeny, které se zřejmě vyvinuly genetickou divergencí ze společného předka. To naznačuje adaptaci na jednotlivé lokace (Soll et al. 1991). Při vzorkování několika rodin byly detekovány

genealogicky specifické genotypy a jejich shluky, neb host může mít více genotypů jednoho druhu na jedné nebo různých lokalitách těla. Změny genotypů, druhů i přenos mezi členy rodiny byly také

dokumentovány (Kam a Xu 2002). Pokud podmínky dovolí přemnožení, pak *Candida* buď zůstává na povrchu sliznice, nebo invaduje hlouběji, a pak se jedná o hlubokou mykózu jiných tkání. Také se může šířit krevní cestou, a to vede ke kandidémii (Maganti et al. 2011), která může končit smrtí. Mechanismy virulence jsou shrnuty na Obrázku 7. Přemnožení většinou probíhá symptomaticky. Členové adhezínů sekvenčně podobných aglutininu zprostředkují agregaci kandidy s bakteriemi a dalšími kvasinkami



Obrázek 7: Mechanismy virulence *C. albicans*. Expres adhezínů, adheze, tigmotropismus, exprese invasinů a hydrolázy, které indukují endocytózu hyfy. Fenotypová plasticita ovlivňuje antigenicitu a formaci biofilmu. Mezi faktory virulence patří i heat shock proteiny (Hsps), které jsou produkovány v reakci na stres, exkrece amoniaku a následná extracelulární alkalizace, příjem živin a esenciálních kovů. Převzato a upraveno z Mayer et al. (2013).

sliznice, nebo invaduje hlouběji, a pak se jedná o hlubokou mykózu jiných tkání. Také se může šířit krevní cestou, a to vede ke kandidémii (Maganti et al. 2011), která může končit smrtí. Mechanismy virulence jsou shrnuty na Obrázku 7. Přemnožení většinou probíhá symptomaticky. Členové adhezínů sekvenčně podobných aglutininu zprostředkují agregaci kandidy s bakteriemi a dalšími kvasinkami

(Klotz et al. 2007). *Candida albicans* a *Cryptococcus neoformans* tvoří imunomodulační látky prostaglandiny. Mohou je tvořit *de novo*, ale větší část vzniká konverzí exogenních arachidonových kyselin a dalších mastných kyselin. Výše zmíněné vede k domněnce, že tyto druhy jsou schopné manipulovat imunitní odpověď hostitele ve svůj prospěch (Noverr et al. 2001). Další látkou produkovanou tímto rodem je farnesol, molekula rozpoznávající početné komunity. Ten je nezbytný pro virulenci šířící se infekce. Potlačuje morfogenezi, růst hyf a vznik biofilmu (Ramage et al. 2002). Glycerol, metabolit produkovaný buňkami *C. albicans* tvořícími biofilm, je zásadní pro expresi genů sloužících k adhezi během formace biofilmu (Desai et al. 2013). Synergistický vztah panuje mezi *Candida albicans* a mnohými zástupci rodu *Streptococcus*, tvořícími krátké řetězce nebo můstky mezi kvasinkami a druhy s fibrilami také autoagregují. Koagregace je základem vzniku smíšeného biofilmu. Je-li *Candida* vystavena nedostatku glukózy je tato synergie ještě významnější (Jenkinson et al. 1990). Tyto druhy zachytávají na prolin bohaté proteiny z lidských slin, které podněcují adhezi kvasinek rodu *Candida* (O'Sullivan et al. 2000). Naopak *P. aeruginosa* tvorbou pyocyaninu a phenazinů inhibuje morfogenezi, adhezi a respiraci *C. albicans*, která pak tvoří zvrásněné kolonie. Tato struktura biofilmu usnadňuje přístup ke kyslíku a má vyšší respiraci (Morales et al. 2013). Tento vztah je příkladem obecnějšího pravidla významnosti morfologie. Pokud je *Candida* v hyfální formě, *Pseudomonas* okolo ní vytvoří biofilm, který je pro hyfy letální. Kvasinková forma *Candida* však zůstává neovlivněna (Hogan a Kolter 2002). Její morfogenezi ovlivňuje pH, teplota, kultivační médium, dostupnost živin (Nair et al. 2001) a metabolity mastných kyselin (Noverr a Huffnagle 2004). Kolonizace ústní dutiny kandidou je samozřejmě rizikovým faktorem pro invazivní kandidózu. Překvapivé je, že nejvyšší počet kolonizovaných je mezi pacienty s poruchami endokrinního systému (53,6 %) (Wu et al. 2014). Pseudomembranózní kandidóza je nejčastější forma orální kandidózy, která se vyznačuje typickými bělavými povrchy na zarudlé sliznici. Je jedním z onemocnění, kdy je pozorován nárůst houbové diverzity společně se zvýšením hustoty. Hlavní nárůst u nemocných oproti zdravým zaznamenaly druhy *C. dublinensis* (o 11,5 %). Po antimykotické léčbě byl viditelný nárůst *C. albicans* (o 12 % na 61 %), zatímco *C. dublinensis* klesla na 3 %. *C. albicans* dokáže proteolyticky degradovat mnohé z antimikrobiálních substancí lidských slin (Wu a Samaranyake 1999). U jedinců, kteří nebyli nosiči rodu *C. albicans* působí sliny o 20 % více inhibičně vůči jejímu blastokonidiálnímu růstu. Čím vyšší je průtok slin, tím více je potlačena formace klíční hyfy (Hibino et al. 2009). *Prevotella intermedia* a *Porphyromonas gingivalis*, dva rody černě pigmentovaných anaerobů jsou dominantní v asociaci s paradentózou. Variace v rámci času a mikrolokality může vysvětlit nevyváženou progresi nemoci (Isoshima et al. 1995). *Prevotella* byla také asociována se vznikem orálních lézí a karcinomů (Schmidt et al. 2014). Tyto dva druhy zvyšují virulenci *C. albicans* tak, že podporují klíčení blastospor v hyfu. Jedinou statistickou významnou supresi klíčení projevila interakce s *Escherichia coli* (Nair et al. 2001). Produkce klíční hyfy je také determinacním znakem, neboť se vyskytuje jen u druhů *Candida albicans* a *dublinensis* (Peltroche-Llacsahuanga et al. 1999).



*Candida albicans* je schopná nabýt různých specifických stavů v lidském střevě. Gastrointestinálně indukovaná přeměna (GUT), jinak také tmavý vývojový program, je fenotyp, který podporuje adaptaci na dlouhodobé setrvání v tlustém střevě v komenzálním stavu pomocí snížené regulace genů asociovaných s virulencí a zvýšené regulace genů pro získávání živin z prostředí. GUT jsou odlišné morfologicky i funkčně a díky dané adaptaci mají zvýšené fitness pro prostředí savčího střeva a kompetičně převyšují takzvaný divoký typ. Během narušení imunity mohou zahájit patogenезi, kdy se opět aktivují geny pro formování hyf a fenotypovou přeměnu (přepínání bílý - béžový). Tento fenotyp je charakteristický znaky znázorněnými na Obrázku 8 a pro roli komenzála nemá vhodné předpoklady. Tímto je jasně prokázané, že kromě imunitního systému má velkou roli v patogenезi také komplexní přeměna buněčné identity daného organismu (Pande et al. 2013).

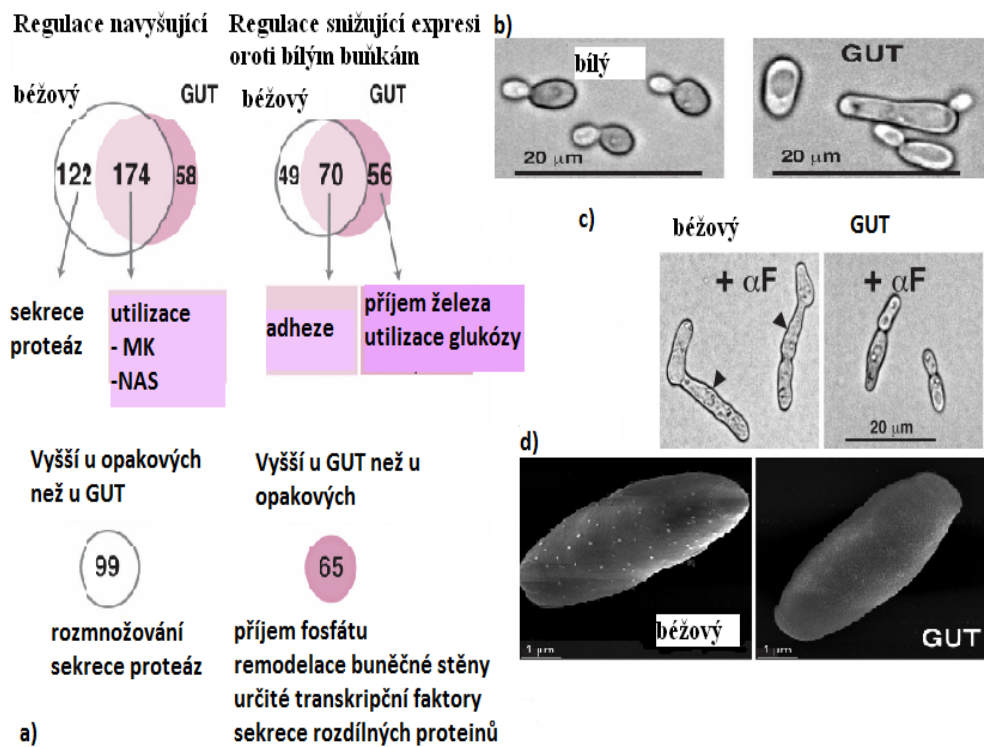
### 8.3 Imunosuprese

Četnost transformace původně komenzálních organismů v oportunní diseminované a později i invazní mykotické infekce je v posledních dekádách na vzestupu (Pfaller a Diekema 2010).

Hlavními faktory tohoto nárůstu jsou rozšířené virové epidemie typu viru

lidské imunitní nedostatečnosti (HIV), civilizační choroby jako je diabetes, pokroky v medicíně a farmacii, stále přetrvávající podvýživa v zemích třetího světa, ale i v důsledku poruch příjmu potravy ve vyspělém světě, prodlužování věku dožití, který je často doprovázen malnutricí, a tím nárůst podílu imunosuprimovaných.

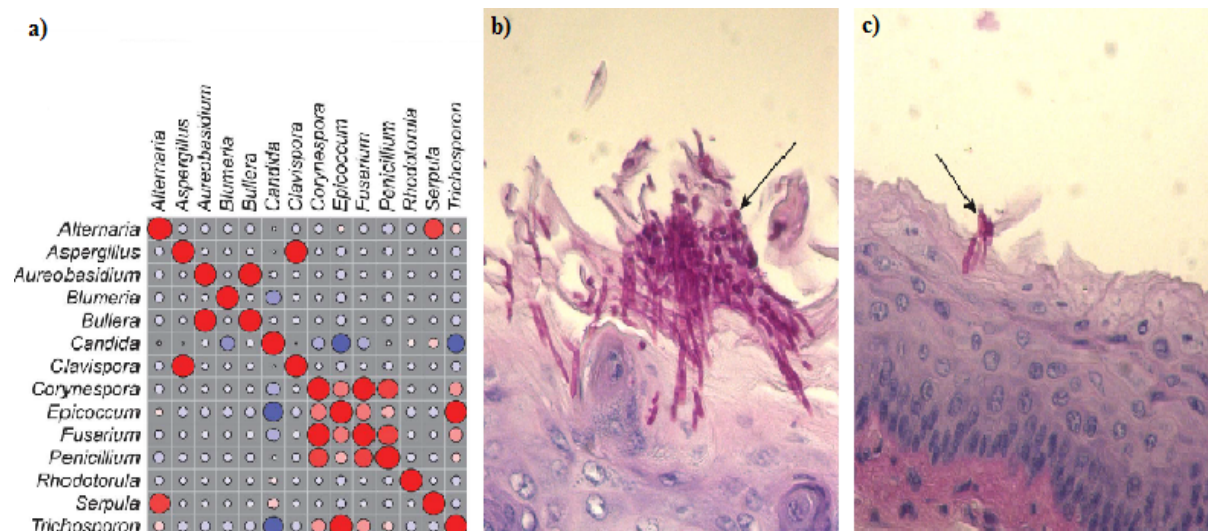
Studie Aas et al. (2007) detekovala v orálním mykobiomu HIV pozitivních pouze *Saccharomyces*



Obrázek 8: Rozdílnost buněčné identity druhu *C. albicans*. a) Vennovými diagramy znázorněný překryv a odlišnosti transkripční exprese pro GUT a běžový typ, b) rozdílná morfologie kolonií bílého a GUT typu c) běžový typ reaguje na vylučovaný feromon formací rozmnožovacích filament, d) typická bradavičnatost běžového typu. Převzato a upraveno z Pande et al. (2013). Zkratky: MK – mastné kyseliny, NAS – N-acetylglukosamin.

*cerevisiae* a *Candida albicans*. Kolonizace *Fusarium* byla u zdravých třikrát nižší než u infikovaných. Jediný rod bakterií přítomný výhradně u nemocných byl *Capsocytophaga*. Izoláty *Candida albicans* z ústní dutiny nakažených HIV byly v in vivo experimentech podstatně schopnější vytvořit klíčící hyfu. Oproti kontrolám tak byly výrazně virulentnější. Obecně tento fenotyp reagoval odlišně na podmínky prostředí (Nair et al. 2001). Například produkoval vyšší množství aspartyl proteinázy a působil více acidogenně (Wu a Samaranyake 1999). *C. dublinensis* je druh často izolovaný z ústní dutiny HIV pozitivních, zatímco se vyskytuje pouze u 3,5 % zdravých (Ieda et al. 2014). *C. dublinensis*, *C. krusei*, *C. glabrata* (Wu et al. 2014) a *Aspergillus fumigatus* (Chowdhary et al. 2013) jsou často rezistentní k léčbě. Historie kandidózy jícnu nebo užívání zubních protéz zvyšovala riziko kolonizace těmito odolnými druhy. Antiretrovirální terapie u pacientů snižovala riziko vzniku orofaryngeální kandidózy, která zasahuje i hrtan. Jako u většiny druhů tohoto onemocnění je hlavním původcem *C. albicans*. Ta se také z 27% podílela na vzniku rezistence (Patel et al. 2012). Mukherjee et al. (2014) definoval hlavní rozdíl v predominanci rodu *Candida*, která činila 98 % oproti 58 % u zdravých. Zvyšující se prevalence rodu *Candida* byla pozorována se současným poklesem rodu *Pichia*, který u zdravých jedinců tvořil 33 % celkové orální mykobioty. Antagonistický vztah byl potvrzen schopností inhibovat růst patogenních hub rodů *Candida*, *Fusarium* a *Aspergillus* snížením jejich schopnosti adherovat, klíčit a tvořit biofilmy in vitro. Již vytvořený biofilm po vystavení metabolickému působení *Pichia* kompletně lyzoval. Tento efekt byl ověřen i na myším modelu. Zvířata léčená suspenzí *Pichia*, vykazovala pouze povrchovou kolonizaci hyfami, zatímco tkáň samotná byla nedotčená, což znázorňuje Obrázek 9.

Zatímco u zdravých jedinců nejsou výsledky dostatečně průkazné, U pacientů se syndromem získaného selhání imunity (AIDS) bylo prokázáno, že kouření výrazně zvyšuje pravděpodobnost vzniku orofaryngeální kandidózy. Působivé je, že se nejednalo pouze o kuřáky, ale i o pacienty, kteří kouřili v minulosti (Patel et al. 2012). Ze studie Monteiro-da-Silva et al. (2013) vyplývá domněnka, že tento návyk podporuje patogenní plísně typu *Penicillium* a *Aspergillus*. Kandidóza jícnu byla nejčastějším endoskopickým nálezem. Vyskytovala se u více než 50 % HIV pozitivních a byla často doprovázena afty, které by mohly být využívány jako prediagnostický marker (AliMohamed et al. 2002). Při endoskopickém odběru a následné histologické examinaci pacientů s lokální patologií byla kandidóza diagnostikována alespoň na jedné lokalitě horního trávicího traktu u 4 % testovaných, což naznačuje, že tato infekce je obvykle sekundární po prvotním narušení mukózy (Scott a Jenkins 1982). U imunosuprimovaných byl pozorován nárůst abundance pro *Lactobacillus* na neuvěřitelných 3844% (von Rosenvinge et al. 2013). Vzájemná interference rodů *Lactobacillus* a *Candida* byla dokumentována na myším modelu již v 70. letech minulého století. Dokonce byl popsán i vliv antibiotické léčby a následná rekolonizace i s podpůrným efektem příjmu exogenních laktobacilů (Savage 1969). Vliv antibiotické léčby je detekovatelný ještě minimálně 3 týdny po ukončení léčby (Mason et al. 2012a).



Obrázek 9: a) graf znázorňuje vztahy mezi jednotlivými členy mykobiomu u nemocných AIDS. Modrá barva značí negativní korelaci, červená pozitivní a průměr kruhu absolutní hodnotu korelace; b) myšší model orální kandidózy bez léčby; c) po medikaci médiem vyčerpaným růstem rodu *Pichia*. Převzato a upraveno z Mukherjee et al. (2014).

Sliznice žaludku je nejčastější vstupní branou pro invazi a rozesetí houbové infekce (Zwolińska-Wcisło et al. 2001). Dokonce byl dokumentován i případ pseudomembranózní gastritidy, kdy byl celý povrch žaludeční sliznice pokryt 1,5 cm tlustou rozptýlenou drobnou zánětlivou pseudomembránou, která obsahovala početnou hyfální komunitu druhu *Aspergillus fumigatus*, fibrin, hlen a neutrofilů (Yong et al. 2000). Hyfální penetrace a translokace u druhů *C. albicans* a *C. tropicalis* probíhala z mnoha kolonizovaných lokalit těla pouze ve sliznici žaludku (De Repentigny et al. 1992). V určitých výjimečných případech může kolonizace mikromycety vyústit v infekci končící zneprůchodněním, celkovým rozrušením, odumíráním a až protržením stěny některé z částí gastrointestinálního traktu. Lze zmínit fatální aspergilózu kyčelníku (Ouaïssi et al. 2003), mukormykózu žaludku spojenou s produkcí plynem vyplněných kavit, jež způsobil nekrózu stěny a multiorgánové selhání (Jung et al. 2007) nebo smrtelnou perforaci jícnu zaviněnou infekcí *Candida* procházející stěnou trubice (Gock et al. 2005). Makroskopické projevy hluboké mykotické stěvní infekce tenkého i tlustého střeva jsou vředy, fleky na mukóze, odloupené mukózní membrány, polypy a léze. Morfologicky byly ve všech případech určeny za viníky *Candida* spp. nebo *Aspergillus* spp. Některé případy byly kombinované, kdy *Candida* povětšinou zůstávala na mukóze a *Aspergillus* byl definován transmuralní radiální invazivitou. Doprovodné gastrointestinální symptomy byly od žádných až po výrazné. U některých došlo k porušení střev následkem nedostatečného přívodu krve nebo střevní obstrukce. Všichni zemřeli na sepsi, většina nebyla houbového původu, ale byl výrazný podíl fungémie. V 86 % případů byla infekce způsobená těmito organismy také jinde v těle (Prescott et al. 1992). Pacienti kolonizovaní rodem *Candida* rozvinou signifikantně vážnější formu gastrointestinální reakce štěpu proti hostiteli (GI-GVHD). Antifungální terapie tak zlepšuje symptomy a průběh této nemoci (Van der Velden et al. 2013) Mukormykóza gastrointestinálního traktu je výjimečná infekce, která se většinou vyskytuje u imunokompromitovaných jedinců a vyznačuje se

vysokou mortalitou (Lalwani et al. 2012). Výskyt infekce je zvýšen u pacientů po transplantaci jater vůbec nejvyšší oproti jiným rizikům typu akutního odmítnutí orgánu, virové infekce či selhání ledvin. Nejčastějším rodem způsobující potransplantační infekci je *Candida* (98 %) následována *Aspergillus fumigatus* (11 %) a *Cryptococcus neoformans* (3%) (Rabkin et al. 2000). Non-*albicans* druhy rodu *Candida* mohou tvořit i 55 % všech infekcí, kdy rezistentní *C. parapsilosis* tvoří 50 % (Raghuram et al. 2012).

## 8.4 Nemoci asociované s působením mykobiomu a jeho změnami

Duální vztah panuje mezi diverzitou mykobiomu a progresí nemoci. Často panuje domněnka, že diverzita by měla pozitivně korelovat s vývojem nemoci. To platí například pro zánětlivá onemocnění střev (Li et al. 2014) a hepatitidu B (Chen et al. 2011). Veskrze se jedná o infekční a chronická onemocnění, při nichž se houbová infekce přidává jako sekundární a zhoršuje daný stav. Jindy, třeba pro nasální mykobiom při alergiích, je tomu naopak (Sellart-Altisent et al. 2007), což však může být pouze artefakt v důsledku hypersekrece a následného pročištění nosní dutiny. Obecně se dá rozlišit, zda dané onemocnění mění prostředí ve prospěch či neprospěch růstu hub. Otázkou však zůstává, zda jde o spouštěcí či průvodní efekt onemocnění, nebo následek zvolené terapie. Ověření se zdá snadné. Využijeme-li skupinově cílenou antifungální léčbu a nemoc selepší nebo zhorší, je daný mykobiom jedním z činitelů. Pokud při podávání medikamentů proti onemocnění dojde současně ke změně mykobiomu, pak by měl být mykobiom pouze přidruženým jevem dané nemoci (Iliev et al. 2012). Nakonec je třeba zmínit i případy, kdy není průkazná vůbec žádná korelace mezi stavem onemocnění a druhovým bohatstvím mykobiomu, které je spíše individuální pro každého jednotlivce.

### 8.4.1 Horní aerodigestivní trakt

Hlavními viníky vzniku zubních kazů jsou dlouhodobě označovány bakterie *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus*, ale role *Candida albicans* byla dlouhodobě podceňována. Mezi její výjimečné kazotvorné vlastnosti patří schopnost adherovat k základním složkám dentinu (Cannonet al. 1995, Makihira et al., 2002), produkce mnoha kyselin, mezi něž patří i pyruvát, jenž je účinnější než laktát, který produkují členové rodu *Lactobacillus*, při snižování pH již kyselého prostředí (Klinke et al. 2009), produkce H<sup>+</sup> iontů a acidifikace pomocí produkce oxidu uhličitého, který se ve vodním prostředí rozpouští na kyselinu uhličitou. Výzkum kazů prokázal *Actinomyces izraeli*, *Veillonella*, *Streptococcus mutant*, *Lactobacillus* a *C. albicans* s proporcí v pořadí 18,2 %, 9,4 %, 6%, 1,3 % a 0,2 %, z totální kultivovatelné flóry. Frekvence byla velmi vysoká u všech mimo *Actinomyces*, který byl izolován jen z 57 % kazů (Marchant et al. 2001). Opomíjený je však přepočítaný na reálnou biomasu, která se u jednotlivých mikrobů výrazně liší díky velikosti a tvaru buněk, jehož výsledkem je vyšší zastoupení *Candida* než *Streptococcus* (Klinke et al. 2009). Některé práce užívají ještě výraznější přepočítaný například 20 : 1, *Candida* : *Streptococcus* (Jenkinson et al. 1990). Laktobacily jsou pak

považovány spíše za vnější oportunní kolonizátory zubních kazů podílející se na jejich progresi (Caufield et al. 2007).

Oproti kontrolám byl u alergiků pro druhy *Cladosporium* a *Alternaria* mírně zvýšený výskyt v nosní dutině. Nejčastěji izolovaným druhem byl *Cladosporium cladosporioides*. Výlučný výskyt pro mykofloru alergiků byl zjištěn pro rody *Chrysonilis*, *Stemphylium* a *Alternaria alternata* (Sellart-Altisent et al. 2007). Při alergii byla vyšší individuální variabilita (Jung et al. 2015).

Typickým projevem houbového zánětu jícnu jsou lokální bílé plaky mukózy, viz Obrázek 10. Průnik do sliznice byl dokumentován jen pro 38,5 % případů stupně III a IV, kdy již dochází ke snížené pohyblivosti (Kodsi et al. 1976) a často také ztloustnutí stěn trubice. Ve výjimečných případech jsou zvýšený metabolismus a ztloustnutí natolik výrazné, že se kandidáza jeví jako malignance (Kuyumcu et al. 2015). Pacienti medikovaní blokátory protonových pump vykazovali signifikantně vyšší

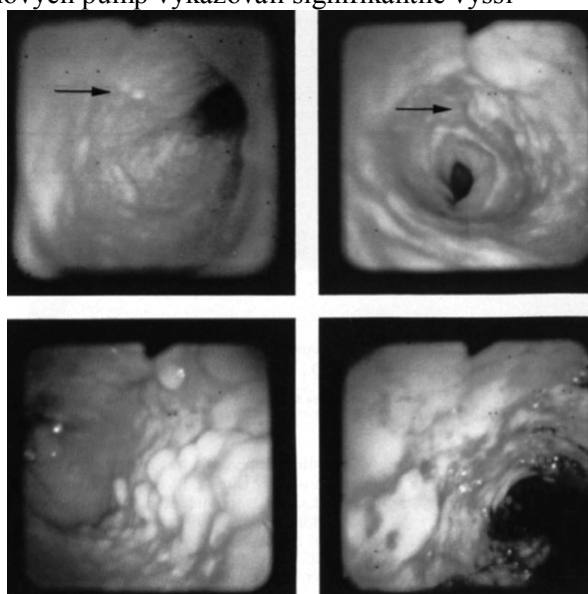
incidenci pozitivních kultur a tkáňových rozborů jícnu. Dalšími rizikovými faktory je stáří se změnou pohyblivostí trubice, achalázie a vředy. Tyto způsobují zpomalení průchodu potravy v daném místě. Celkově byla jakákoliv forma kolonizace houbami detekována u 41 % vyšetřených. Mezi druhy dominovala *Candida albicans*, která byla o 31,5 % častěji detekována u pacientů s onemocněním jícnu oproti kontrolám (Bonavina et al. 2003), následována *C.*

*glabrata*, *C. lipolytica*, rody *Cryptococcus* a *Trichosporon* (Vermeersch et al. 1989).

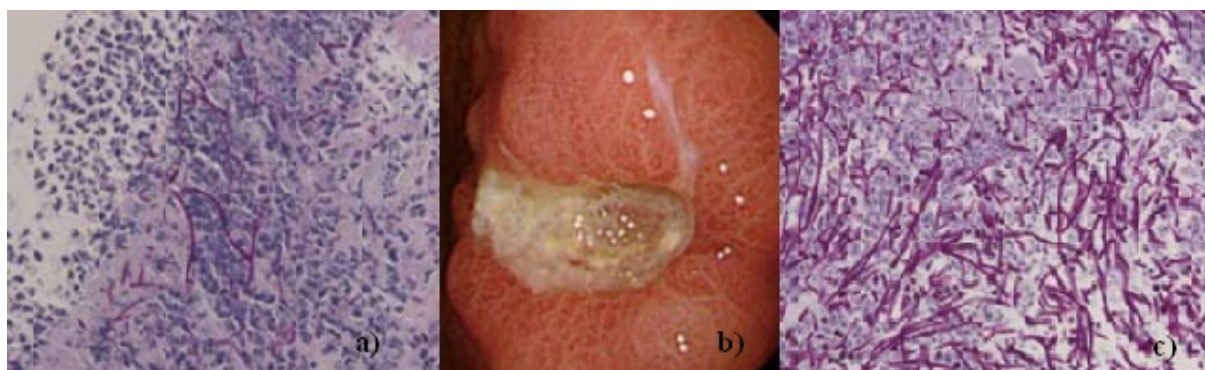
Kolonizace žaludku *Candida* většinou probíhá asymptomaticky, ale společně s antibiotickou

léčbou může odstartovat zánět sliznice (Mason et al. 2012a). Mikromycety jsou všeobecně považovány pouze za sekundární kolonizátory vředů bez výrazného efektu na jejich hojení (Wu et al. 1995). Nejčastěji se vyskytují v exsudátech na jejich bázi s výjimečnou infiltrací do mukózy v okolí vředu (Wu et al. 1995), viz Obrázek 11.

Vředy infiltrované houbami se vizuálně jeví větší, a častěji tak vykazují falešně pozitivní malignanci (Loffeld et al. 1988). Nejčastěji izolovaným druhem ze žaludečních vředů je stále *C. albicans*, a to s poklesem o 5 % oproti incidenci u zdravých kontrol. Zároveň byl detekován nárůst diverzity, neb více než jeden druh hub byl izolován o 12,2 % častěji (Zwolińska-Wcisło et al. 2001).



Obrázek 10: Candidou způsobený zánět jícnu. Endoskopicky zdokumentované bílé plaky na mukóze od nejmírnějšího (stupeň I) po nejinvaznější (stupeň IV) stádium. Převzato a upraveno z Kodsi et al. (1976).



Obrázek 11: Histologické a endoskopické zobrazení vředu. a) a c) patrná hyfální kolonizace bioptického odběru z vředu kolonizovaného *C. tropicalis*. b) endoskopická fotografie vředu v dolní části žaludku. Převzato a upraveno z Sasaki (2012) .

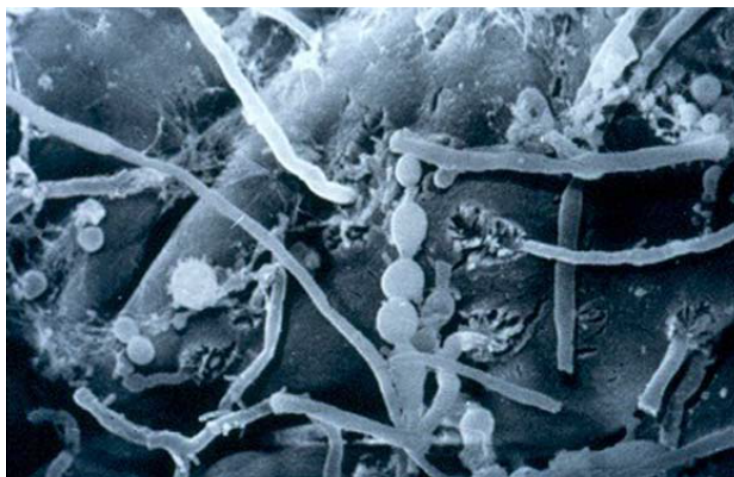
U myšičho modelu bylo prokázáno, že kolonizace zmíněným rodem může pomoci změny vlastností mukózy způsobit alergickou reakci vůči antigenům z jídla. Na myšičm modelu bylo také objeveno, že přecitlivělost vznikala minimálně z části zvýšenou permeabilitou mukózy zprostředkovanou žírnými buňkami (Yamaguchi et al. 2006). Společný výskyt *C. albicans* a *Helicobacter pylori* může značit synergii při vzniku žaludečních vředů. Takováto kolonizace žaludeční sliznice se vyskytuje u 11 % pacientů s žaludečními obtížemi (Karczewska et al. 2009). Studie objevily intracelulární výskyt *H. pylori* ve vakuolách *Candida*. Taktěž bylo prokázáno, že i v těchto podmínkách *H. pylori* zůstává životaschopný a exprimuje několik pro tento druh specifických proteinů, jako je vakuolizační cytotoxin A, ureázu a peroxiredoxin. Dokonce by toto prostředí mohlo *H. pylori* poskytovat potřebné živiny pro přežití i multiplikaci a chránit ho před vlivy žaludečních kyselin (Sanjee et al. 2013). Tato bakterie je považována za rizikový faktor pro vznik minimálně některých typů žaludečních malignancí (Wotherspoon 1998). 10,3 % pacientů s chronickou gastritidou vykazovalo infiltraci mukózy mikromycety se shodným pořadím druhů jako ve zdraví (Zwolińska-Weislo et al. 2001).

#### 8.4.2 Spodní část trávicí trubice

Zánětlivé onemocnění střev (IBD) je soubor onemocnění charakteristický výraznou zánětlivou odpovědí poškozující tkáň trávicího traktu (Duchmann et al. 1995). Bývá důsledkem tří základních kofaktorů: vliv prostředí, mezi něž patří i střevní mikroflóra, multigenová predispozice a autoimunní poranění tkání (Li et al. 2014). Dva hlavní typy diagnóz jsou Crohnova choroba (CD) a ulcerózní kolitida (UC), které se vyznačují přítomností specifických protilátek, jichž lze využít jako markeru pro budoucí onemocnění u doposud asymptomatických jedinců (Israeli et al. 2005). Porovnání je uvedené v Tabulce 4. Pro nemocné UC jsou specifickým markerem protilátky proti perinukleární cytoplazmě neutrofilů (pANCA). pANCA byly detekovány u 25 % pacientů s UC již před objevením příznaků a stanovením diagnózy (Israeli et al. 2005). U Crohnovy choroby jde o protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) (Main et al. 1988).

Střevní zánět byl spojen se zvýšenou expresí cytokininů faktor nádorové nekrózy  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) a interferon-  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) podporujících zánět a sníženou produkci interleukinu (IL)-10, který působí imunosupresivně. Exprese TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  pozitivně a IL-10 negativně

korelovala s druhovým bohatstvím. Také počty pomocných lymfocytů byly v oblastech zánětu vyšší.

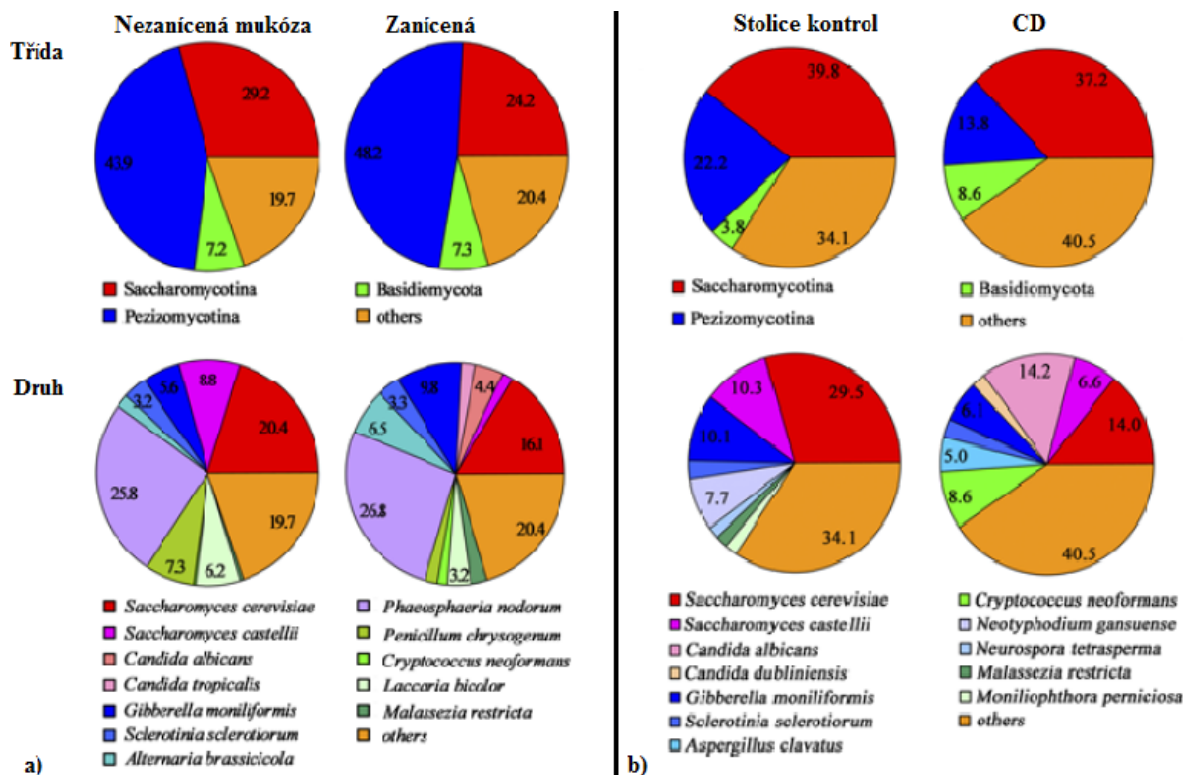


Obrázek 12: *Candida albicans* na bioptickém odběru mukózy lidského tenkého střeva. Kulovité klíčící buňky a okolo nich vláknité agresivní hyfy. Převzato a upraveno z Schulze a Sonnenborn (2009).

Zanícená sliznice se vyznačuje rozšířením krypt, vyčerpáním pohárkových buněk, ztrátou střevního epitelu, infiltrací jednojadernými buňkami a lymfocyty vůči slizničnímu vazivu a následnou tvorbou vředu. Zatímco nezanícená sliznice se vyznačuje jistou variabilitou druhového složení, veškerá zanícená si je typově velice podobná (Li et al. 2014). Potlačení produkce IL-17A secukinumabem není u pacientů s aktivní CD funkční (Hueber et al. 2012), což může být zapříčiněno bujením *Candida*, které je umožněné ztrátou kontroly nad IL-17 (Colombel et al. 2013), což vytváří začarovaný kruh. Bezprostřední dotyk blastokonidií a klků ústí v lýzi kartáčkových lemů a další invazi mikromycet (De Repentigny et al. 1992). Ačkoliv chronický zánět střeva indukuje zvýšenou expresi antimikrobiálně působících lyzozomů a  $\alpha$  i  $\beta$  defensinů v buňkách střevního epitelu (Fahlgren et al. 2003), tak je diverzita střevního mykobiomu při IBD zvětšená (Ott et al. 2008). Významnou roli hraje i snížení bakteriální diverzity. Kolonizace *C. albicans*, *Geotrichum candidum* a *Penicillium commune* je nespecifická pro zdravotní stav. Druhy, které se častěji vyskytovaly u IBD byly *Rhodotorula mucilaginosa*, *Exidiopsis calcea*, *C. ootensis*, *C. parapsilosis*, *Trametes vesicolor*, a *S. cerevisiae*. Není však jasné, zda jsou jedněmi ze spouštěčích faktorů nebo pouhou sekundární změnou (Ott et al. 2008). Srovnání diverzity u CD, UC, zánětlivých vzorků mukózy a zdravé tkáně je zřejmé z Tabulky 5. *Candida* častěji kolonizuje pacienty s historií UC delší než pět let. Taková infekce způsobuje signifikantně prodloužené hojení, snížení krevního průtoku a nárůst produkce IL-1  $\beta$  a TNF- $\alpha$ . 91% tvoří *C. albicans*. Antifungální i acidofilní terapie působí viditelné zlepšení vůči znovunastolení homeostáze (Zwolinska-Wcislo et al. 2009).

U CD pacientů je detekována zvýšená prevalence rodů *Metschnikowia*, *Thanatesporus* a snížená pro *Debaryomyces*, *Saccharomyces* a *Nakaseomyces* (Jianzhong et al. 2014). Na druhové úrovni se vyznačovala expanzí *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Gibberella moniliformis*, *Alternaria brassicicola*, *Cryptococcus neoformans*. (Li et al. 2014), *Trametes vesicolor*, *C. dubliensis*, *Filobasidium globisporum* a výhradním výskytem druhů *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum* a *Sirococcus conigenus* (Ott et al. 2008). Snížená abundance byla detekována pro *Saccharomyces*

*cerevisiae* a *S.castellii* (Li et al. 2014).



Obrázek 13: a) koláčový graf pro porovnání biodiverzity populací ze vzorků zanícené a nezanícené sliznice, b) porovnání vzorků stolice zdravých kontrol s vzorky pacientů s CD. Převzato a upraveno z Q. Li et al. (2014).

Ačkoliv *C. albicans* disseminuje výrazně rychleji a ve vyšší koncentraci, tak myši infikované *C. tropicalis* umírají o 16 % častěji než ty infikované *C. albicans* (De Repentigny et al. 1992).

Fekální mykobiom byl narušený zvýšením prevalence *C. albicans*, *Aspergillus clavatus*, *C. neoformans* a četnost *S. cerevisiae* klesla i zde (Herbert et al. 2006), viz Obrázek 13. Jeho diverzita pozitivně korelovala s CRP a indexem aktivity nemoci, CDAI (Li et al. 2014).

ASCA jsou ve skutečnosti protilátky namířené proti mannanu, který se kromě *S. cerevisiae* nachází také u *C. albicans*. Epitopy jsou specificky exprimovány na několika molekulách buněčné stěny během aktivní infekce, tedy patogenního stavu *C. albicans*. ASCA jsou detekovány až u 73 % pacientů s CD (Standaert-Vitse et al. 2006). *C. albicans* je sice častěji a ve vyšších koncentracích izolována z fekálních vzorků CD rodin a její kolonizace souvisí s vyšší pravděpodobností detekce ASCA, ale vzájemný vztah zůstává nejasný (Standaert-Vitse et al. 2009). ASCA byly detekovány v 31,3 % případů ještě před diagnózou. Část jedinců pozitivních na ASCA i koncentrace protilátek se v čase blížícím se k momentu diagnózy proporcčně zvětšovala. Průměrný interval od detekce ASCA k diagnóze byl 38 měsíců. U většiny však byly pozitivní již první odběry séra, což značí stále podhodnocení průměrné doby. Zvýšená permeabilita tenkého střeva by mohla vést ke zvýšené expozici antigenů kvasinek vůči reaktivním imunitním buňkám. Tento jev, který nastává brzy v patogenezi CD, by mohl vysvětlit brzkou detekci ASCA (Israeli et al. 2005). Ovšem při celobiózo-manitolovém testu byla tato asociace prokázána jen pro 37,5% pacientů a 11,5 % jejich příbuzných



prvního řádu, což naznačuje genetickou změnu slizniční bariéry (Secondulfo et al. 2001). Dlouhodobé výzkumy zatím nebyly publikovány, a tak nepanuje jistota ohledně jejich nynějšího či budoucího zdravotního statutu (Israeli et al. 2005). Detekce ASCA, především pak ASCA IgA, byly také asociovány se zvýšenou nutností operativního zásahu do tří let od diagnózy, kdy nejčastějším zákrokem byla ileocekální resekce. Proto by mohly být využity jako vodítko k výrazně agresivnějšímu přístupu k léčbě (Forcione et al. 2004). pANCA pozitivní pacienti s CD jsou asociovány s dokumentovanou levostrannou kolitidou a vykazují rysy UC (Vasiliauskas et al. 1996). Dalšími látkami, které mohou být nápomocné v rozlišení mezi CD a UC jsou imunoglobulin A protilátky proti polysacharidům buněčné stěny, jako je laminarin (anti-L) a chitin (anti-C). Přidání anti-L a anti-C k ASCA a pANCA tvoří komplexní testovací metodu. Anti-L byl asociován s onemocněním, které postihuje kyčelník a tlusté střevo a anti-C s penetrujícím a perianálním onemocněním, oboje jsou tak asociovány s agresivnějším fenotypem onemocnění (Seow et al. 2009).

Průměrný věk nástupu symptomů je 24 let. Z environmentálních faktorů byla prokázána souvislost s výskytem kouření a zánětů slepého střeva, konzumace podstatně většího množství nepasterizovaných sýrů i méně obilovin a pití vody ze studní namísto z vodovodu. Diagnostikovaní s CD také častěji trpí na ekzematičká kožní onemocnění (Herbert et al. 2006).

IBS je jednou z častých funkčních poruch trávicího traktu, která ovlivňuje asi 12 % americké populace (Drossman et al. 1993). Není jistá příčina tohoto komplexního onemocnění, ale může vzniknout *de novo* po akutní gastroenteritidě. Takováto postinfekční IBS vzniká až v 36,2 % případů (Marshall et al. 2006). Projevy jsou přetrvávající zánět, změněná pohyblivost a zvýšená permeabilita střeva. Hlavní symptomy jsou shodné s kandidou způsobeným infekčním průjmem a takzvaným „*Candida* syndromem“. Také bylo naznačeno, že intolerance potravin může být následkem narušené bakteriální mikrobioty, přemnožení *C. albicans* a vzniku IBS (Nahas 2011). Ačkoliv některé výzkumy toto spojení vyvrací (Middleton, SJ, Coley A 1992). Jiné studie podporují patogenní roli *Blastocystis hominis* u tohoto onemocnění (Jimenez-Gonzalez et al. 2012), jiné však asociaci nepotvrdili (Tungtrongchitr et al. 2004). Významnou roli u těchto studií bude hrát metodologie.

Byl-li růst mykobiomu doprovázející kolitidu potlačen léky, veškeré doprovodné projevy a příznaky probíhaly v mírnější formě. To je důkazem, že neschopnost kontrolovat střevní mykobiom vede k horšímu průběhu kolitidy (Iliev et al. 2012).

I průjem může být následkem přemnožení hub ve střevě. Takováto rozsáhlá infekce může mít projevy: bolest v abdomenu, anorexie, vodnatá stolice, vředovitost, krvácení, perforace a letální nekróza střev (Tie a Stephens 2000). Bylo předpokládáno, že virulentní faktory mikromycet typu fosfolipáz a produkce aspartylových proteáz se mohou podílet na průjmu způsobeném antibiotickou léčbou, ale jejich produkce nebyla oproti kontrolám navýšena. Nakonec byla kolonizace houbami označena za následek léčby a průjmu samotného, ne jeho příčinu (Krause et al., 2001, Krause et al., 2002).

Z fekálních vzorků pacientů s chronickým průjmem byla kultivací prokázána infekční dávka ve 27 %

vzorků. V 97 % byl viníkem jeden druh. Nejčastější byla *Candida tropicalis* (43 %), *C. krusei* s *C. albicans* (16 %), dále *C. famata*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, *C. guilliermonfii*, *C. ciferri* a *Trichosporon aschii*. Což ukazuje, že non-*albicans* druhy jsou viníkem již v 78 % případů a zřejmě jsou nadále na vzestupu (Banerjee et al. 2013).

## 9. Závěr

Práce měla objasnit komplexní problematiku gastrointestinální houbové kolonizace. Pro lepší uvedení do problematiky jsem postupně vysvětlila pojmy, zmínila metodologii výzkumu, shrnula zdravý mykobiom trávicího traktu, faktory ovlivňující jeho změnu, roli imunity a jednotlivé stavy disbalance. Závěrečná část práce shrnuje změněný střevní mykobiom, který bude předmětem mého dalšího studia. Čím více toho víme, tím jasnější se zdá, že tolik nezbytná rovnováha v mikrobiomu trávicího traktu je velice křehká a ústřední roli hraje imunitní systém, který svým působením, rozpoznává, reaguje a buď toleruje, nebo limituje danou houbovou zátěž.

Literární rešerše potvrdila význam mykobiomu pro správnou funkčnost lidského organismu. Zároveň upozornila na faktory, které mohou daný stav změnit. Mezi ně mimo věci dané jako je genotyp, pohlaví, rasa a věk patří i konzumované potraviny, návyky přerůstající v závislost, hygiena, způsob bydlení i expozice sporám a jiným formám hub z okolního prostředí. V případech imunoprese nebo bakteriální disbalance často faktory limitující nárůst houbové zátěže selhávají a nastává ideální čas pro rozvoj oportunní infekce například pomocí přeměny buněčné identity rodu *Candida*, jeho přemnožení, případně až invazi do tkání, hluboké mykotické infekci někdy končící nekrotizací orgánu či sepsí. Mykobiom se podílí na vzniku, přetrvávání či zhoršení nemocí jako je vznik zubního kazu, alergická rýma, zánět jícnu, žaludku, IBD, IBS a průjem. Další onemocnění jako ateroskleróza, obezita, mnohé malignance, HBV, lupénka, atopický ekzém a jiné se jeví jako asociované se změnou v lidském mikrobiomu.

Nakonec bych si dovolila zmínit, že neucelená metodologie v mnoha případech nevyužívající všech pokrokových metod, velice často se vyskytující malá testovaná populace způsobující, že výsledky nedosahující signifikance, nejednotné způsoby vzorkování a kultivace činí podání uceleného přehledu poněkud obtížným. Definice jednotlivých zdravých mykobiomů trávicí trubice stále chybí a tím, že nepanuje obecně uznávaný názor, který by jasně definoval transientní kolonizátory, kontaminanty a druhy trvale rezidentní, bývají výsledky často pouhým faktickým popisem a diskuse vychází naprázdno. Osobně za velmi významnou metodiku považuji využití gnotobiotických myší ve výzkumu role, kterou v našich životech hraje mikrobiální komunita jako celek.

## 10. Výhled na DP

Bakalářská práce je metodickou přípravou na práci diplomovou. Součástí diplomové práce bude pomocí high-throughput sekvenačních metod analyzovat klinický materiál s cílem blíže popsat rozdíly

v mykobiomu zdravých a nemocných jedinců. Vybrané druhy mikromycet průkazně asociované s mykobiomem nemocných jedinců budou kultivovány a charakterizovány na úrovni metabolismu, produkce enzymů jakož i dalších fyziologických vlastností. Jejich vliv na imunitní odpověď bude studován *in vitro* na buněčných kulturách.

## 11. Seznam použité literatury

- AAS, J a, S M BARBUTO, T ALPAGOT, I OLSEN, F E DEWHIRST a B J PASTER, 2007. Subgingival plaque microbiota in HIV positive patients. *Journal of clinical periodontology* [online]. 3., roč. 34, č. 3, s. 189–95 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 0303-6979. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-051X.2006.01034.x
- ALIMOHAMED, F, G N LULE, A NYONG'O, J BWAYO a F S RANA, 2002. Prevalence of Helicobacter pylori and endoscopic findings in HIV seropositive patients with upper gastrointestinal tract symptoms at Kenyatta National Hospital, Nairobi. *East African medical journal*. roč. 79, č. 5, s. 226–231. ISSN 0012-835X.
- ANDERSON, Harry Warren, 1917. Yeast-Like Fungi of the Human Intestinal Tract. *The Journal of Infectious Diseases* [online]. roč. 21, č. 4, s. 341–386. ISSN 0399077X. Dostupné z: doi:10.1016/S0399-077X(71)80055-0
- ANGEBAULT CÉCILIE, DJOSSOU FÉLIX, ABÉLANET SOPHIE, PERMAL EMMANUELLE, SOLTANA MB, DIANCOURT LAURE, BOUCHIER CHRISTIANE, WOERTHER PL, CATZEFLIS FRANCOIS, ANDREMONT ANTOINE, D'ENFERT CHRISTOPHE, Bougnoux ME, 2013. Candida albicans is not always the preferential yeast colonising humans: a study amongst Wayampi Amerindians. *Journal of infectious diseases*. roč. 33, č. 0, s. 1–43.
- BÄCKHED, Fredrik, Hao DING, Ting WANG, Lora V HOOPER, Gou Young KOH, Andras NAGY, Clay F SEMENKOVICH a Jeffrey I GORDON, 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. roč. 101, č. 44, s. 15718–15723. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0407076101
- BANERJEE, P, R KAUR a B UPPAL, 2013. Study of fungal isolates in patients with chronic diarrhea at a tertiary care hospital in north India. *Journal de Mycologie Medicale* [online]. roč. 23, č. 1, s. 21–26. ISSN 1156-5233. Dostupné z: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L52416212\http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2012.12.002> \ <https://gsk.worldcat.org/openurlresolver?sid=EMBASE&issn=11565233&id=doi:10.1016/j.mycmed.2012.12.002&atitle=Study+of+fun>
- BIK, Elisabeth M, Paul B ECKBURG, Steven R GILL, Karen E NELSON, Elizabeth a PURDOM, Fritz FRANCOIS, Guillermo PEREZ-PEREZ, Martin J BLASER a David a RELMAN, 2006. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. roč. 103, č. 3, s. 732–737. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0506651103
- BONAVINA, L, R INCARBONE, M REITANO, A TORTORANO, M VIVIANI a A PERACCHIA, 2003. Candida colonization in patients with esophageal disease: a prospective clinical study. *Diseases of the esophagus*: official journal of the International Society for Diseases of the Esophagus / I.S.D.E. roč. 16, č. 2, s. 70–72.
- BURFORD-MASON, A. P., J. M. T. WILLOUGHBY a J. C. P. WEBER, 1993. Association between gastrointestinal tract carriage of Candida, blood group O, and nonsecretion of blood group antigens in patients with peptic ulcer. *Digestive Diseases and Sciences* [online]. B.m.: Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 8., roč. 38, č. 8, s. 1453–1458 [vid. 28. března 2015]. ISSN 0163-2116. Dostupné z: doi:10.1007/BF01308603
- BUSLAU, M, I MENZEL a H HOLZMANN, 1990. *Fungal flora of human faeces in psoriasis and atopic dermatitis*. 1990.
- CANNON, Richard D, Arita K NAND a Howard F JENKINSON, 1995. Adherence of Candida albicans to human salivary components adsorbed to human saliva. *Microbiology*. roč. 141, č. 1, s. 213–219.
- CASSONE, Marco, Pietro SERRA, Francesca MONDELLO, Antonietta GIROLAMO, Sandro SCAFETTI, Eleonora PISTELLA a Mario VENDITTI, 2003. Outbreak of Saccharomyces cerevisiae Subtype boulardii Fungemia in Patients

- Neighboring Those Treated with a Probiotic Preparation of the Organism. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. roč. 41, č. 11, s. 5340–5343. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.41.11.5340
- CAUFIELD, PW, Y LI, A DASANAYAKE a D SAXENA, 2007. Diversity of Lactobacilli in the Oral Cavities of Young Women with Dental Caries. *Caries Research* [online]. roč. 41, č. 1, s. 1–9. ISSN 15378276. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted
- COLOMBEL, Jean Frédéric, Boualem SENDID, Thierry JOUAULT a Daniel POULAIN, 2013. Secukinumab failure in Crohn's disease: the yeast connection? *Gut* [online]. roč. 62, č. 5, s. 800–1. ISSN 1468-3288. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2012-304154
- CUI, Lijia, Alison MORRIS a Elodie GHEDIN, 2013. The human mycobiome in health and disease. *Genome medicine* [online]. 1., roč. 5, č. 7, s. 63. ISSN 1756-994X. Dostupné z: doi:10.1186/gm467
- DE REPENTIGNY, L., M. PHANEUF a L. G. MATHIEU, 1992. Gastrointestinal colonization and systemic dissemination by *Candida albicans* and *Candida tropicalis* in intact and immunocompromised mice. *Infection and Immunity*. roč. 60, č. 11, s. 4907–4914. ISSN 00199567.
- DESAI, Jigar V., Vincent M. BRUNO, Shantanu GANGULY, Ronald J. STAMPER, Kaitlin F. MITCHELL, Norma SOLIS, Elizabeth M. HILL, Wenjie XU, Scott G. FILLER, David R. ANDES, Saranna FANNING, Frederick LANNI a Aaron P. MITCHELL, 2013. Regulatory role of glycerol in *Candida albicans* biofilm formation. *mBio* [online]. roč. 4, č. 2, s. 1–9. ISSN 21612129. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.00637-12
- DOLLIVE, Serena, Gregory L PETERFREUND, Scott SHERRILL-MIX, Kyle BITTINGER, Rohini SINHA, Christian HOFFMANN, Christopher S NABEL, David a HILL, David ARTIS, Michael a BACHMAN, Rebecca CUSTERS-ALLEN, Stephanie GRUNBERG, Gary D WU, James D LEWIS a Frederic D BUSHMAN, 2012. A tool kit for quantifying eukaryotic rRNA gene sequences from human microbiome samples. *Genome biology* [online]. B.m.: BioMed Central Ltd, 1., roč. 13, č. 7, s. R60 [vid. 25. listopad 2014]. ISSN 1465-6906. Dostupné z: doi:10.1186/gb-2012-13-7-r60
- DÖRFFEL, Y, C LÄTSCH, B STUHLMÜLLER, S SCHREIBER, S SCHOLZE, G R BURMESTER a J SCHOLZE, 1999. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension*. roč. 34, č. 1, s. 113–117. ISSN 0194-911X.
- DROSSMAN, Douglas a., Zhiming LI, Eileen ANDRUZZI, Robert D. TEMPLE, Nicholas J. TALLEY, W. GRANT THOMPSON, William E. WHITEHEAD, Josef JANSSENS, Peter FUNCH-JENSEN, Enrico CORAZZIARI, Joel E. RICHTER a Gary G. KOCH, 1993. *U. S. Householder survey of functional gastrointestinal disorders* [online]. 1993. ISBN 0163-2116. Dostupné z: doi:10.1007/BF01303162
- DUCHMANN, R, I KAISER, E HERMANN, W MAYET, K EWE a K H MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, 1995. Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clinical and experimental immunology* [online]. roč. 102, č. 3, s. 448–455. ISSN 0009-9104. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2249.1995.tb03836.x
- DUPUY, Amanda K, Marika S DAVID, Lu LI, Thomas N HEIDER, Jason D PETERSON, Elizabeth a MONTANO, Anna DONGARI-BAGTZOGLOU, Patricia I DIAZ a Linda D STRAUSBAUGH, 2014. Redefining the human oral mycobiome with improved practices in amplicon-based taxonomy: discovery of *Malassezia* as a prominent commensal. *PLoS one* [online]. 1., roč. 9, č. 3, s. e90899 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0090899
- FAHLGREN, a, S HAMMARSTRÖM, A DANIELSSON a M-L HAMMARSTRÖM, 2003. Increased expression of antimicrobial peptides and lysozyme in colonic epithelial cells of patients with ulcerative colitis. *Clinical and experimental immunology*. roč. 131, č. 1, s. 90–101. ISSN 0009-9104.
- FINDLEY, Keisha, Julia OH, Joy YANG, Sean CONLAN, Clayton DEMING, Jennifer A. MEYER, Deborah SCHOENFELD, Effie NOMICOS, Morgan PARK, Heidi H KONG a Julia A SEGRE, 2013. Human Skin Fungal Diversity. *Nature* [online]. roč. 498, č. 7454, s. 367–370. ISSN 15378276. Dostupné z: doi:10.1038/nature11130.Reduced

FORCIONE, D G, M J ROSEN, J B KISIEL a B E SANDS, 2004. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody (ASCA) positivity is associated with increased risk for early surgery in Crohn's disease. *Gut* [online]. roč. 53, č. 8, s. 1117–1122. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2003.030734

GHANNOUM, Mahmoud a, Richard J JUREVIC, Pranab K MUKHERJEE, Fan CUI, Masoumeh SIKAROODI, Ammar NAQVI a Patrick M GILLEVET, 2010. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS pathogens* [online]. 1., roč. 6, č. 1, s. e1000713 [vid. 21. listopad 2014]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1000713

GOCK, Michael, Markus SCHÄFER, Aurel PERREN, Nicolas DEMARTINES a Pierre Alain CLAVIEN, 2005. Fatal esophageal perforation caused by invasive candidiasis. *Annals of Thoracic Surgery* [online]. roč. 80, č. 3, s. 1120–1122. ISSN 00034975. Dostupné z: doi:10.1016/j.athoracsur.2004.02.147

GOUBA, Nina, Didier RAOULT a Michel DRANCOURT, 2013. Plant and Fungal Diversity in Gut Microbiota as Revealed by Molecular and Culture Investigations. *PLoS ONE* [online]. roč. 8, č. 3. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0059474

GOUBA, Nina, Didier RAOULT a Michel DRANCOURT, 2014. Eukaryote culturomics of the gut reveals new species. *PloS one* [online]. 1., roč. 9, č. 9, s. e106994 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0106994

GUO, R., Z. CHEN, N. CHEN a Y. CHEN, 2010. Quantitative Real-Time PCR Analysis of Intestinal Regular Fungal Species in Fecal Samples From Patients With Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Laboratory Medicine* [online]. roč. 41, č. 10, s. 591–596. ISSN 0007-5027. Dostupné z: doi:10.1309/LMMC0WVZXD13PUJG

HAMAD, Ibrahim, Cheikh SOKHNA, Didier RAOULT a Fadi BITTAR, 2012. Molecular detection of eukaryotes in a single human stool sample from senegal. *PLoS ONE* [online]. roč. 7, č. 7. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0040888

HERBERT, J v K, Marie JOOSSENS, Severine VERMEIRE, Sofie JOOSSENS, Stéphane DEBEUGNY, Corinne GOWER-ROUSSEAU, Antoine CORTOT, Jean-Frédéric COLOMBEL, Paul RUTGEERTS a Robert VLIETINCK, 2006. Environmental factors in familial Crohn's disease in Belgium. *Inflammatory bowel diseases* [online]. roč. 11, č. 4, s. 360–365. ISSN 0192-0790. Dostupné z: doi:10.1097/MCG.0b013e3180644d3c

HIBINO, Kyoko, Lakshman P. SAMARANAYAKE, Urban HÄGG, Ricky W K WONG a Wilson LEE, 2009. The role of salivary factors in persistent oral carriage of *Candida* in humans. *Archives of Oral Biology* [online]. roč. 54, č. 7, s. 678–683. ISSN 00039969. Dostupné z: doi:10.1016/j.archoralbio.2009.04.003

HOFFMANN, Christian, Serena DOLLIVE, Stephanie GRUNBERG, Jun CHEN, Hongzhe LI, Gary D WU, James D LEWIS a Frederic D BUSHMAN, 2013. Archaea and fungi of the human gut microbiome: correlations with diet and bacterial residents. *PloS one* [online]. 1., roč. 8, č. 6, s. e66019 [vid. 16. říjen 2014]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0066019

HOGAN, DA a R KOLTER, 2002. Pseudomonas-Candida interactions: an ecological role for virulence factors. *Science* [online]. roč. 296, č. 5576, s. 2229–2232 [vid. 20. leden 2015]. Dostupné z: doi:10.1126/science.1070784

HUEBER, W, BE SANDS a S LEWITZKY, 2012. *Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: Unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial* [online]. 2012. ISBN 1468-3288 (Electronic)n0017-5749 (Linking). Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2011-301668

HUFFNAGLE, Gary B a Mairi C NOVERR, 2013. The emerging world of the fungal microbiome. *Trends in microbiology* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, roč. 21, č. 7, s. 334–41 [vid. 17. listopad 2014]. ISSN 1878-4380. Dostupné z: doi:10.1016/j.tim.2013.04.002

CHANG, H J, H L MILLER, N WATKINS, M J ARDUINO, D a ASHFORD, G MIDGLEY, S M AGUERO, R PINTO-POWELL, C F VON REYN, W EDWARDS, M M MCNEIL a W R JARVIS, 1998. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. *The New England journal of medicine* [online]. roč. 338, č. 11, s. 706–711. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199803123381102

- CHEN, Grace Y., 2014. Role of Nlrp6 and Nlrp12 in the maintenance of intestinal homeostasis. *European Journal of Immunology* [online]. roč. 44, č. 2, s. 321–327. ISSN 00142980. Dostupné z: doi:10.1002/eji.201344135
- CHEN, Yu, Zhenjing CHEN, Renyong GUO, Nan CHEN, Haifeng LU, Shuai HUANG, Jie WANG a Lanjuan LI, 2011. Correlation between gastrointestinal fungi and varying degrees of chronic hepatitis B virus infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. B.m.: Elsevier Inc., roč. 70, č. 4, s. 492–498. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.04.005
- CHOWDHARY, Anuradha, Shallu KATHURIA, Jianping XU a Jacques F. MEIS, 2013. Emergence of Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Strains due to Agricultural Azole Use Creates an Increasing Threat to Human Health. *PLoS Pathogens* [online]. roč. 9, č. 10, s. 3–7. ISSN 15537366. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1003633
- IEDA, Shinsuke, Masafumi MORIYAMA, Toru TAKASHITA, Takashi MAEHARA, Yumi IMABAYASHI, Shoichi SHINOZAKI, Akihiko TANAKA, Jun-Nosuke HAYASHIDA, Sachiko FURUKAWA, Miho OHTA, Yoshihisa YAMASHITA a Seiji NAKAMURA, 2014. Molecular analysis of fungal populations in patients with oral candidiasis using internal transcribed spacer region. *PloS one* [online]. 1., roč. 9, č. 6, s. e101156 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0101156
- ILIEV, Iliyan D, Vincent a FUNARI, Kent D TAYLOR, Quoclinh NGUYEN, Christopher N REYES, Samuel P STROM, Jordan BROWN, Courtney a BECKER, Phillip R FLESHNER, Marla DUBINSKY, Jerome I ROTTER, Hanlin L WANG, Dermot P B MCGOVERN, Gordon D BROWN a David M UNDERHILL, 2012. Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis. *Science (New York, N.Y.)* [online]. 8.6., roč. 336, č. 6086, s. 1314–7 [vid. 24. červenec 2014]. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1221789
- ISOSHIMA, O., H. OHTA, H. KURIHARA, K. KATO, K. FUKUI a Y. MURAYAMA, 1995. Distribution of Black-Pigmented *Prevotella* and *Porphyromonas* species in the Dentition of Moderate Periodontitis Patients. *Microbial Ecology in Health and Disease* [online]. roč. 8, č. 4, s. 159–169. ISSN 0891-060X. Dostupné z: doi:10.3109/08910609509140094
- ISRAELI, E, I GROTTA, B GILBURD, R D BALICER, E GOLDIN, A WIJK a Y SHOENFELD, 2005. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut* [online]. roč. 54, č. 9, s. 1232–1236. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2004.060228
- JENKINSON, HF, HC LALA a MG SHEPHERD, 1990. Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other streptococci with *Candida albicans*. *Infection and immunity* [online]. roč. 58, č. 5, s. 1429–1436 [vid. 20. leden 2015]. Dostupné z: http://iai.asm.org/content/58/5/1429.short
- JIANZHONG, Hu, Pei ZHILHENG, Itzkowitz STEVEN a Peter INGA, 2014. Diversified Gut Bacterial and Fungal Communities in Ashkenazi Jews with Crohn's Disease. *Inflammatory Bowel Diseases* [online]. roč. 20, č. 209, s. 108–109. Dostupné z: doi:10.1097/01.MIB.0000456955.36853.8c
- JIMENEZ-GONZALEZ, Diego Emiliano, Williams Arony MARTINEZ-FLORES, Jesus REYES-GORDILLO, Maria Elena RAMIREZ-MIRANDA, SARA ARROYO-ESCALANTE, Mirza ROMERO-VALDOVINOS, Damien STARK, Valeria SOUZA-SALDIVAR, Fernando MARTINEZ-HERNANDEZ, Ana FLISSER, Angelica OLIVO-DIAZ a Pablo MARAVILLA, 2012. Blastocystis infection is associated with irritable bowel syndrome in a Mexican patient population. *Parasitology Research* [online]. roč. 110, č. 3, s. 1269–1275. ISSN 09320113. Dostupné z: doi:10.1007/s00436-011-2626-7
- JOUAULT, Thierry, Aurore SARAZIN, Maria MARTINEZ-ESPARZA, Chantal FRADIN, Boualem SENDID a Daniel POULAIN, 2009. Host responses to a versatile commensal: PAMPs and PRRs interplay leading to tolerance or infection by *Candida albicans*. *Cellular Microbiology* [online]. roč. 11, č. 7, s. 1007–1015. ISSN 14625814. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-5822.2009.01318.x
- JUNG, Ji Han, Hyun Joo CHOI, Jinyoung YOO, Seok Jin KANG a Kyo Young LEE, 2007. Emphysematous gastritis associated with invasive gastric mucormycosis: A case report. *Journal of Korean Medical Science* [online]. roč. 22, č. 5, s. 923–927. ISSN 10118934. Dostupné z: doi:10.3346/jkms.2007.22.5.923
- JUNG, Won Hee, Daniel CROLL, Jae Hoon CHO, Yu Ri KIM a Yang Won LEE, 2015. Analysis of the nasal vestibule mycobiome in patients with allergic rhinitis. *Mycoses* [online]. roč. 58, č. 3, s. 167–172. ISSN 09337407. Dostupné z: doi:10.1111/myc.12296

- KAM, Angela P. a Jianping XU, 2002. Diversity of commensal yeasts within and among healthy hosts. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. roč. 43, č. 1, s. 19–28. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/S0732-8893(02)00364-4
- KARCZEWSKA, E., I. WOJTAS, E. SITO, D. TROJANOWSKA, Alicja BUDAK, M. ZWOLINSKA-WCISLO a a. WILK, 2009. Assessment of co-existence of *Helicobacter pylori* and *Candida* fungi in diseases of the upper gastrointestinal tract. *Journal of Physiology and Pharmacology*. roč. 60, č. SUPPL.6, s. 33–39. ISSN 08675910.
- KEMPF, Volkhard A. J., Karlheinz TREBESIUS a Ingo B. AUTENRIETH, 2000. Fluorescent In Situ Hybridization Allows Rapid Identification of Microorganisms in Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. roč. 38, č. 2, s. 830–838.
- KIM, Yun Gi, Kankanam Gamage Sanath UDAYANGA, Naoya TOTSUKA, Jason B. WEINBERG, Gabriel NÚÑEZ a Akira SHIBUYA, 2014. Gut dysbiosis promotes M2 macrophage polarization and allergic airway inflammation via fungi-induced PGE2. *Cell Host and Microbe* [online]. roč. 15, č. 1, s. 95–102. ISSN 19313128. Dostupné z: doi:10.1016/j.chom.2013.12.010
- KLINKE, T., S. KNEIST, J. J. DE SOET, E. KUHLISCH, S. MAUERSBERGER, A. FÖRSTER a W. KLIMM, 2009. Acid production by oral strains of *Candida albicans* and *Lactobacilli*. *Caries Research* [online]. roč. 43, s. 83–91. ISSN 00086568. Dostupné z: doi:10.1159/000204911
- KLOTZ, Stephen a, Nand K GAUR, Richard DE ARMOND, Donald SHEPPARD, Nancy KHardori, John E EDWARDS, Peter N LIPKE a Mohamed EL-AZIZI, 2007. *Candida albicans* Als proteins mediate aggregation with bacteria and yeasts. *Medical mycology* □: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology [online]. roč. 45, č. 4, s. 363–370. ISSN 1369-3786. Dostupné z: doi:10.1080/13693780701299333
- KODSI BE, WICKREMESINGHE PC, KOZINN PJ, ISWARA KADIRAWELPILLAI, Goldberg PK, 1976. *Candida* esophagitis. *Gastroenterology* [online]. roč. 71, č. 5. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-5085(76)80347-2
- KOENIG, Jeremy E, Aymé SPOR, Nicholas SCALFONE, Ashwana D FRICKER, Jesse STOMBAUGH, Rob KNIGHT, Largus T ANGENENT a Ruth E LEY, 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. roč. 108 Suppl, s. 4578–4585. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1000081107
- KOREN, Omry, Aymé SPOR, Jenny FELIN, Frida FÅK, Jesse STOMBAUGH, Valentina TREMAROLI, Carl Johan BEHRE, Rob KNIGHT, Björn FAGERBERG, Ruth E LEY a Fredrik BÄCKHED, 2011. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. roč. 108 Suppl, s. 4592–4598. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1011383107
- KRANEVELD, Eefje a, Mark J BUIJS, Marc J BONDER, Marjolein VISSER, Bart J F KEIJSER, Wim CRIELAARD a Egija ZAURA, 2012. The relation between oral *Candida* load and bacterial microbiome profiles in Dutch older adults. *PloS one* [online]. 1., roč. 7, č. 8, s. e42770 [vid. 25. listopad 2014]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0042770
- KRAUSE, Robert, Renate HABERL, Christina STREMPFL, Florian DAXBÖCK, Günter J KREJS, Emil C REISINGER a Christoph WENISCH, 2002. Intestinal *Candida* phospholipase is not elevated in patients with antibiotic-associated diarrhea. *Scandinavian journal of infectious diseases* [online]. roč. 34, č. 11, s. 815–816. ISSN 0036-5548. Dostupné z: doi:10.1080/0036554021000026951
- KRAUSE, Robert, Egon SCHWAB, Daniela BACHHIESL, Florian DAXBÖCK, Christoph WENISCH, G J KREJS a E C REISINGER, 2001. Role of *Candida* in antibiotic-associated diarrhea. *The Journal of infectious diseases* [online]. roč. 184, č. 8, s. 1065–1069. ISSN 0022-1899. Dostupné z: doi:10.1086/323550
- KÜHBACHER, T, S J OTT, U HELWIG, T MIMURA, F RIZZELLO, B KLEESSEN, P GIONCHETTI, M BLAUT, M CAMPIERI, U R FÖLSCH, M A KAMM a S SCHREIBER, 2006. Bacterial and fungal microbiota in relation to probiotic therapy (VSL#3) in pouchitis. *Gut* [online]. roč. 55, č. 6, s. 833–841. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2005.078303

KUYUMCU, Serkan, Yasemin SANLI, Gulcin YEGEN a Ayse MUDUN, 2015. Candida esophagitis mimicking esophageal malignancy on 18FDG PET/CT. *The Turkish Journal of Gastroenterology* [online]. roč. 26, č. 1, s. 63–64. ISSN 13004948. Dostupné z: doi:10.5152/tjg.2015.5422

LALWANI, Shailendra, Mahendran GOVINDASAMY, Manoj GUPTA, Fouzia SIRAJ, Vibha VARMA, Naimaish MEHTA, Vinay KUMARAN, Neelam MOHAN, Prem CHOPRA, Anil ARORA, Shyam AGARWAL, Arvinder SOIN a Samiran NUNDY, 2012. Gastrointestinal mucormycosis-four cases with different risk factors, involving different anatomical sites. *Indian Journal of Gastroenterology* [online]. roč. 31, č. 3, s. 139–143. ISSN 02548860. Dostupné z: doi:10.1007/s12664-012-0215-z

LEBEER, Sarah, Jos VANDERLEYDEN a Sigrid C J DE KEERSMAECKER, 2010. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nature reviews. Microbiology* [online]. roč. 8, č. 3, s. 171–184. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro2297

LEY, Re, Pj TURNBAUGH, S KLEIN a Ji GORDON, 2006. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* [online]. roč. 444, č. 7122, s. 1022–3. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature4441021a

LI, H, T TAKESHITA, M FURUTA, M TOMIOKA, Y SHIBATA, Y SHIMAZAKI, K MAKIMURA a Y YAMASHITA, 2012a. Molecular characterization of fungal populations on the tongue dorsum of institutionalized elderly adults. *Oral diseases* [online]. 11., roč. 18, č. 8, s. 771–7 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1601-0825. Dostupné z: doi:10.1111/j.1601-0825.2012.01944.x

LI, Qiurong, Chenyang WANG, Chun TANG a Qin HE, 2014. Dysbiosis of Gut Fungal Microbiota is Associated With Mucosal Inflammation in Crohn's Disease. *J Clin Gastroenterol* [ ... [online]. roč. 48, č. 6, s. 513–523 [vid. 7. prosinec 2014]. Dostupné z: [http://pdfs.journals.lww.com/jcge/9000/00000/Dysbiosis\\_of\\_Gut\\_Fungal\\_Microbiota\\_is\\_Associated.98726.pdf](http://pdfs.journals.lww.com/jcge/9000/00000/Dysbiosis_of_Gut_Fungal_Microbiota_is_Associated.98726.pdf)

LI, Qiurong, Chenyang WANG, Qiang ZHANG, Chun TANG, Ning LI, Bing RUAN a Jieshou LI, 2012b. Use of 18S ribosomal DNA polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis to study composition of fungal community in 2 patients with intestinal transplants. *Human Pathology* [online]. B.m.: Elsevier Inc., roč. 43, č. 8, s. 1273–1281. ISSN 00468177. Dostupné z: doi:10.1016/j.humpath.2011.09.017

LOFFELD, R J, B C LOFFELD, J W ARENDS, J a FLENDRIG a J P VAN SPREEUWEL, 1988. Fungal colonization of gastric ulcers. *The American journal of gastroenterology*. roč. 83, č. 7, s. 730–733. ISSN 00029270.

MAGANTI, Harinad, Deborah YAMAMURA a Jianping XU, 2011. Prevalent nosocomial clusters among causative agents for candidemia in Hamilton, Canada. *Medical mycology* □: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology [online]. roč. 49, č. 5, s. 530–538. ISSN 1369-3786. Dostupné z: doi:10.3109/13693786.2010.547880

MAIN, Janice, Hamish MCKENZIE, Grant R YEAMAN, Michael a KERR, Deborah ROBSON a Christopher R PENNINGTON, 1988. Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease Rupture of tendon after cryotherapy for hand wart. *Genetics*. roč. 297, č. October, s. 1105–1106.

MAKIHIRA, S., H. NIKAWA, M. TAMAGAMI, T. HAMADA, H. NISHIMURA, K. ISHIDA a H. YAMASHIRO, 2002. Bacterial and Candida adhesion to intact and denatured collagen in vitro. *Mycoses* [online]. roč. 45, č. 9-10, s. 389–392. ISSN 09337407. Dostupné z: doi:10.1046/j.1439-0507.2002.00776.x

MARCHANT, S., S. R. BRAILSFORD, a. C. TWOMEY, G. J. ROBERTS a D. BEIGHTON, 2001. The Predominant Microflora of Nursing Caries Lesions. *Caries Research* [online]. roč. 35, č. 6, s. 397–406. ISSN 00086568. Dostupné z: doi:10.1159/000047482

MARSHALL, John K., Marroon THABANE, Amit X. GARG, William F. CLARK, Marina SALVADORI a Stephen M. COLLINS, 2006. Incidence and Epidemiology of Irritable Bowel Syndrome After a Large Waterborne Outbreak of Bacterial Dysentery. *Gastroenterology* [online]. roč. 131, č. 2, s. 445–450. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2006.05.053

MASON, Katie L., John R Erb DOWNWARD, Nicole R. FALKOWSKI, Vincent B. YOUNG, John Y. KAO a Gary B. HUFFNAGLE, 2012a. Interplay between the gastric bacterial microbiota and *Candida albicans* during



postantibiotic recolonization and gastritis. *Infection and Immunity* [online]. roč. 80, č. 1, s. 150–158. ISSN 00199567. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.05162-11

MASON, Katie L., John R Erb DOWNWARD, Kelly D. MASON, Nicole R. FALKOWSKI, Kathryn a. EATON, John Y. KAO, Vincent B. YOUNG a Gary B. HUFFNAGLEA, 2012b. *Candida albicans* and bacterial microbiota interactions in the cecum during recolonization following broad-spectrum antibiotic therapy. *Infection and Immunity* [online]. roč. 80, č. 10, s. 3371–3380. ISSN 00199567. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.00449-12

MATHIESON, R. a S. K. DUTTA, 1983. *Candida esophagitis* [online]. 1983. Dostupné z: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0020628523&partnerID=tZOtx3y1>

MAYER, François L, Duncan WILSON a Bernhard HUBE, 2013. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* [online]. roč. 4, č. 2, s. 119–28. ISSN 2150-5608. Dostupné z: doi:10.4161/viru.22913

MAZZINI, Elisa, Lucia MASSIMILIANO, Giuseppe PENNA a Maria RESCIGNO, 2014. Oral Tolerance Can Be Established via Gap Junction Transfer of Fed Antigens from CX3CR1+ Macrophages to CD103+ Dendritic Cells. *Immunity* [online]. B.m.: Elsevier Inc., roč. 40, č. 2, s. 248–261. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2013.12.012

MCFARLAND, L. V. a P. BERNASCONI, 1993. Saccharomyces boulardii'. A Review of an Innovative Biotherapeutic Agent. *Microbial Ecology in Health and Disease* [online]. roč. 6, č. 208, s. 157–171. ISSN 0891-060X. Dostupné z: doi:10.3109/08910609309141323

MERKUNOVÁ, Alena; OREL, Miroslav. *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory. 1. vyd. Praha: Grada, 2008. 304 s. ISBN 978-80-247-1521-6.*

MIANROODI, Ali-asghar Arabi, Dariush NASIRI, Narges KHANJANI, Seyyed AMIN a Ayatollahi MOUSAVI, 2011. The Fungi Flora of Healthy Nasal Mucosa in Kerman , Iran. *Iranian Journal of Otorhinolaryngology*. roč. 23, č. 2, s. 21–28.

MIDDLETON, SJ, COLEY A, Huneter JO, 1992. The role of *Candida albicans* in the pathogenesis of food-intolerant irritable bowel syndrome. *Postgraduate medical journal* [online]. roč. 68, č. 800, s. 453–454. ISSN 0032-5473. Dostupné z: doi:10.1136/pgmj.69.807.80

MONTEIRO-DA-SILVA, Filipa, Ricardo ARAUJO a Benedita SAMPAIO-MAIA, 2014. Interindividual variability and intraindividual stability of oral fungal microbiota over time. *Medical mycology* [online]. roč. 52, č. 5, s. 498–505 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1460-2709. Dostupné z: doi:10.1093/mmy/myu027

MONTEIRO-DA-SILVA, Filipa, Benedita SAMPAIO-MAIA, Maria De Lurdes PEREIRA a Ricardo ARAUJO, 2013. Characterization of the oral fungal microbiota in smokers and non-smokers. *European journal of oral sciences* [online]. 4., roč. 121, č. 2, s. 132–5 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1600-0722. Dostupné z: doi:10.1111/eos.12030

MORALES, Diana K., Nora GRAHL, Chinweike OKEGBE, Lars E P DIETRICH, Nicholas J. JACOBS a Deborah a. HOGAN, 2013. Control of *Candida albicans* metabolism and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* phenazines. *mBio* [online]. roč. 4, č. 1, s. 1–9. ISSN 21507511. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.00526-12

MOWAT, Allan McI, 2003. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature reviews. Immunology* [online]. roč. 3, č. 4, s. 331–341. ISSN 14741733. Dostupné z: doi:10.1038/nri1057

MUKHERJEE, Pranab K, Jyotsna CHANDRA, Mauricio RETUERTO, Masoumeh SIKAROODI, Robert E BROWN, Richard JUREVIC, Robert a SALATA, Michael M LEDERMAN, Patrick M GILLEVET a Mahmoud a GHANNOUM, 2014. Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi. *PLoS pathogens* [online]. 3., roč. 10, č. 3, s. e1003996 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1003996

NAHAS, Richard, 2011. Irritable bowel syndrome: Common integrative medicine perspectives. *Chinese Journal of Integrative Medicine* [online]. roč. 17, č. 6, s. 410–413. ISSN 16720415. Dostupné z: doi:10.1007/s11655-011-0759-2

- NAIR, R G, S ANIL a L P SAMARANAYAKE, 2001. The effect of oral bacteria on *Candida albicans* germ-tube formation. *APMIS*: *acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. roč. 109, č. 7, s. 147–154. ISSN 0903-4641.
- NOVERR, Mairi C a Gary B HUFFNAGLE, 2004. Regulation of *Candida albicans* Morphogenesis by Fatty Acid Metabolites Regulation of *Candida albicans* Morphogenesis by Fatty Acid Metabolites. *Infection and Immunity* [online]. roč. 72, č. 11, s. 6206–6210. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.72.11.6206
- NOVERR, Mairi C, Susan M PHARE, Galen B TOEWS, Michael J COFFEY a Gary B HUFFNAGLE, 2001. Pathogenic Yeasts *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* Produce Immunomodulatory Prostaglandins. *Infection and immunity* [online]. roč. 69, č. 5, s. 2957–2963. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.69.5.2957
- NOVERR, Mairi C., Rachael M. NOGGLE, Galen B. TOEWS a Gary B. HUFFNAGLE, 2004. Role of antibiotics and fungal microbiota in driving pulmonary allergic responses. *Infection and Immunity* [online]. roč. 72, č. 9, s. 4996–5003. ISSN 00199567. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.72.9.4996-5003.2004
- O’SULLIVAN, JM, HF JENKINSON a RD CANNON, 2000. Adhesion of *Candida albicans* to oral streptococci is promoted by selective adsorption of salivary proteins to the streptococcal cell surface. *Microbiology* [online]. roč. 146, č. 1, s. 41–48 [vid. 20. leden 2015]. Dostupné z: <http://mic.sgmjournals.org/content/146/1/41.short>
- OTT, Stephan J, Tanja KÜHBACHER, Meike MUSFELDT, Philip ROSENSTIEL, Stephan HELLMIG, Ateequr REHMAN, Oliver DREWS, Wilko WEICHERT, Kenneth N TIMMIS a Stefan SCHREIBER, 2008. Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity. *Scandinavian journal of gastroenterology* [online]. roč. 43, č. 7, s. 831–841. ISSN 1502-7708. Dostupné z: doi:10.1080/00365520801935434
- OTT, Stephan J., Nour Eddine EL MOKHTARI, Ateequr REHMAN, Philip ROSENSTIEL, Stephan HELLMIG, Tanja KÜHBACHER, Markus LINS, Rüdiger SIMON a Stefan SCHREIBER, 2007. Fungal rDNA signatures in coronary atherosclerotic plaques. *Environmental Microbiology* [online]. roč. 9, s. 3035–3045. ISSN 14622912. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01415.x
- OUAÏSSI, Mehdi, V. MOUTARDIER, O. EMUNGANIA, B. LELONG, J. M. FOREL, J. GUIRAMAND, O. TURRINI a J. R. DELPERO, 2003. Fatal bowel infarction due to aspergillosis after chemotherapy. *European Journal of Surgical Oncology* [online]. roč. 29, č. 7, s. 628. ISSN 07487983. Dostupné z: doi:10.1016/S0748-7983(03)00116-1
- PANDE, Kalyan, Changbin CHEN a SM NOBLE, 2013. Passage through the mammalian gut triggers a phenotypic switch that promotes *Candida albicans* commensalism. *Nature Genetics* [online]. roč. 45, č. 9, s. 1088–1038. ISSN 15378276. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted
- PATEL, Payal K, Joshua E ERLANDSEN, William R KIRKPATRICK, Deborah K BERG, Steven D WESTBROOK, Christopher LOUDEN, John E CORNELL, George R THOMPSON, Ana C VALLOR, Brian L WICKES, Nathan P WIEDERHOLD, Spencer W REDDING a Thomas F PATTERSON, 2012. The Changing Epidemiology of Oropharyngeal Candidiasis in Patients with HIV/AIDS in the Era of Antiretroviral Therapy. *AIDS research and treatment* [online]. 1., s. 5 [vid. 7. prosinec 2014]. ISSN 2090-1259. Dostupné z: doi:10.1155/2012/262471
- PELTROCHE-LLACSAHUANGA, Heidrun, Antje JENSTER, Rudolf LÜTTICKEN a Gerhard HAASE, 1999. Novel microtiter plate format for testing germ tube formation and proposal of a cost-effective scheme for yeast identification in a clinical laboratory. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. roč. 35, č. 3, s. 197–204. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/S0732-8893(99)00093-0
- PETERS, M, J WEINER a G WHELAN, 1980. Fungal infection associated with gastroduodenal ulceration: endoscopic and pathologic appearances. *Gastroenterology*. roč. 78, č. 2, s. 350–354. ISSN 00165085.
- PFALLER, Michael a a Daniel J DIEKEMA, 2010. *Epidemiology of invasive mycoses in North America*. [online]. ISBN 1040841090. Dostupné z: doi:10.3109/10408410903241444
- PRESCOTT, R J, M HARRIS a S S BANERJEE, 1992. Fungal infections of the small and large intestine. *Journal of clinical pathology* [online]. roč. 45, č. 9, s. 806–811. ISSN 0021-9746. Dostupné z: doi:10.1136/jcp.45.9.806

- QIN, Junjie, Ruiqiang LI, Jeroen RAES, Manimozhiyan ARUMUGAM, K S BURGDORF, Chaysavanh MANICHANH, Trine NIELSEN, Nicolas PONS, Florence LEVENEZ, Takuji YAMADA, D R MENDE, Junhua LI, Junming XU, Shaochuan LI, Dongfang LI, Jianjun CAO, Bo WANG, Huiqing LIANG, Huisong ZHENG, Yinlong XIE, Julien TAP, Patricia LEPAGE, Marcelo BERTALAN, J M BATTO, Torben HANSEN, Denis LE PASLIER, Allan LINNEBERG, H B NIELSEN, Eric PELLETIER, Pierra RENAULT, Thomas SICHERITZ-PONTEN, Keith TURNER, Hongmei ZHU, Chang YU, Shengting LI, Min JIAN, Yan ZHOU, Yingrui LI, Xiuqing ZHANG, Songgang LI, Nan QUINN, Huanming YANG, Jian WANG, Soren BRUNAK, Joel DORÉ, Francisco GUARNER, Karsten KRISTIANSEN, Oluf PEDERSEN, Julian PARKHILL, Jean WEISSENBACH, Peer BORK, S D EHRLICH a Jun WANG, 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* [online]. roč. 464, č. 4, s. 59–65. ISSN 14667401. Dostupné z: doi:10.1038/nature08821
- RABKIN, J M, S L OROLOFF, C L CORLESS, K G BENNER, K D FLORA, H R ROSEN a a J OLYAEI, 2000. Association of fungal infection and increased mortality in liver transplant recipients. *American journal of surgery* [online]. roč. 179, č. 5, s. 426–430. ISSN 0002-9610. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9610(00)00366-4
- RAGHURAM, Anupama, Alejandro RESTREPO, Saman SAFADJOU, Jennifer COOLEY, Mark ORLOFF, Dwight HARDY, Sam BUTLER a CHE KOVAL, 2012. Invasive Fungal Infections Following Liver Transplantation: Incidence, Risk Factors, Survival, and Impact of Fluconazole-Resistant *Candida parapsilosis* (2003-2007). *Liver Transplantation* [online]. roč. 18, č. 9, s. 1100–1109. ISSN 15276465. Dostupné z: doi:10.1002/lt
- RAJALA, Tiina, Mikko PELTONIEMI, Jarkko HANTULA, Raisa MÄKIPÄÄ a Taina PENNANEN, 2011. RNA reveals a succession of active fungi during the decay of Norway spruce logs. *Fungal Ecology* [online]. roč. 4, č. 6, s. 437–448. ISSN 17545048. Dostupné z: doi:10.1016/j.funeco.2011.05.005
- RAJILIĆ-STOJANOVIĆ, Mirjana, Hauke SMIDT a Willem M. DE VOS, 2007. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environmental Microbiology* [online]. roč. 9, č. 9, s. 2125–2136. ISSN 14622912. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01369.x
- RAMAGE, Gordon, Stephen P SAVILLE, Brian L WICKES, José L LÓPEZ-RIBOT a L LO, 2002. Inhibition of *Candida albicans* Biofilm Formation by Farnesol, a Quorum-Sensing Molecule Inhibition of *Candida albicans* Biofilm Formation by Farnesol, a Quorum-Sensing Molecule Downloaded from <http://aem.asm.org/> on September 16, 2013 by Danish Veterina. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. roč. 68, č. 11, s. 5459–5463. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.68.11.5459
- RAMZY, Peter I., Steven E. WOLF, Oivind IRTUN, David W. HART, James C. THOMPSON a David N. HERNDON, 2000. Gut epithelial apoptosis after severe burn: Effects of gut hypoperfusion. *Journal of the American College of Surgeons* [online]. roč. 190, č. 3, s. 281–287. ISSN 10727515. Dostupné z: doi:10.1016/S1072-7515(99)00269-0
- ROMANI, Luigina, 2011. Immunity to fungal infections. *Nature reviews. Immunology* [online]. roč. 11, č. 4, s. 275–288. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri2939
- SANIEE, Parastoo, Farideh SIAVOSHI, G N BROUJENI, Mahmood KHORMALI, Abdolfatah SARRAFNEJAD a Reza MALEKZADEH, 2013. Immunodetection of *Helicobacter pylori*-specific Proteins in Oral and Gastric *Candida* Yeasts. *Archives of Iranian Medicine*. roč. 16, č. 11, s. 624–630.
- SASAKI, Kenji, 2012. *Candida*-associated gastric ulcer relapsing in a different position with a different appearance. *World Journal of Gastroenterology* [online]. roč. 18, č. 32, s. 4450–4453. ISSN 10079327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v18.i32.4450
- SAVAGE, D. C., 1969. Microbial interference between indigenous yeast and lactobacilli in the rodent stomach. *Journal of Bacteriology*. roč. 98, č. 3, s. 1278–1283. ISSN 00219193.
- SCANLAN, Pauline D a Julian R MARCHESI, 2008. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *The ISME journal* [online]. 12., roč. 2, č. 12, s. 1183–93 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1751-7370. Dostupné z: doi:10.1038/ismej.2008.76
- SCOTT, B B a D JENKINS, 1982. Gastro-oesophageal candidiasis. *Gut*. roč. 23, s. 137–139.

- SCUPHAM, Alexandra J., Laura L. PRESLEY, Bo WEI, Elizabeth BENT, Natasha GRIFFITH, Michael MCPHERSON, Feilin ZHU, Oluwadayo OLUWADARA, Nagesh RAO, Jonathan BRAUN a James BORNEMAN, 2006. Abundant and diverse fungal microbiota in the murine intestine. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. roč. 72, č. 1, s. 793–801. ISSN 00992240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.72.1.793-801.2006
- SECONDULFO, M, L De MAGISTRIS, R FIANDRA, L CASERTA, M BELLETTA, M T TARTAGLIONE, G RIEGLER, F BIAGI, G R CORAZZA a R CARRATTÙ, 2001. Intestinal permeability in Crohn's disease patients and their first degree relatives. *Digestive Liver Diseases*. roč. 33, s. 680–685.
- SELLART-ALTISENT, Maite, Josep M. TORRES-RODRÍGUEZ, Silvia GÓMEZ DE ANA a Eidi ALVARADO-RAMÍREZ, 2007. Microbiota fúngica nasal en sujetos alérgicos y sanos. *Revista Iberoamericana de Micología* [online]. roč. 24, č. 2, s. 125–130. ISSN 11301406. Dostupné z: doi:10.1016/S1130-1406(07)70027-X
- SEOW, Cynthia H, Joanne M STEMPAK, Wei XU, Hui LAN, Anne M GRIFFITHS, Gordon R GREENBERG, a Hillary STEINHART, Nir DOTAN a Mark S SILVERBERG, 2009. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *The American journal of gastroenterology* [online]. roč. 104, č. 6, s. 1426–1434. ISSN 1572-0241. Dostupné z: doi:10.1038/ajg.2009.79
- SHIMIZU, Kentaro, Hiroshi OGURA, Takashi ASAHARA, Koji NOMOTO, Asako MATSUSHIMA, Koichi HAYAKAWA, Hitoshi Ikegawa, Osamu TASAKI, Yasuyuki KUWAGATA a Takeshi SHIMAZU, 2014. Gut microbiota and environment in patients with major burns – A preliminary report. *Burns* [online]. B.m.: Elsevier Ltd and International Society of Burns Injuries, s. 6–11. ISSN 03054179. Dostupné z: doi:10.1016/j.burns.2014.10.019
- SCHMIDT, Brian L, Justin KUCZYNSKI, Aditi BHATTACHARYA, Bing HUEY, Patricia M CORBY, Erica L S QUEIROZ, Kira NIGHTINGALE, A Ross KERR, Mark D DELACURE, Ratna VEERAMACHANENI, Adam B OLSHEN a Donna G ALBERTSON, 2014. Changes in abundance of oral microbiota associated with oral cancer. *PLoS one* [online]. B.m.: PUBLIC LIBRARY SCIENCE, 1160 BATTERY STREET, STE 100, SAN FRANCISCO, CA 94111 USA, 1., roč. 9, č. 6, s. e98741 [vid. 11. listopad 2014]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0098741
- SCHULZE, Jürgen a Ulrich SONNENBORN, 2009. Yeasts in the gut: from commensals to infectious agents. *Deutsches Arzteblatt international* [online]. roč. 106, č. 51-52, s. 837–842. ISSN 1866-0452. Dostupné z: doi:10.3238/arztebl.2009.0837
- SOLL, D. R., R. GALASK, J. SCHMID, C. HANNA, K. MAC a B. MORROW, 1991. Genetic dissimilarity of commensal strains of *Candida* spp. carried in different anatomical locations of the same healthy women. *Journal of Clinical Microbiology*. roč. 29, č. 8, s. 1702–1710. ISSN 00951137.
- SPENCER, S P, C WILHELM, Q YANG, J A HALL, N BOULADOUX, A BOYD, T B NUTMAN, J F URBAN, J WANG, T R REMALINGAM, A BHANDOOA, T A WYNN a Y BELKAID, 2014. Adaptation of Innate Lymphoid Cells to a Micronutrient Deficiency Promotes Type 2 Barrier Immunity. *Science* [online]. roč. 343, č. January, s. 432–437. Dostupné z: doi:10.1126/science.1247606
- STANDAERT-VITSE, Annie, Thierry JOUAULT, Peggy VANDEWALLE, Céline MILLE, Mimouna SEDDIK, Boualem SENDID, Jean Maurice MALLETT, Jean Frédéric COLOMBEL a Daniel POULAIN, 2006. *Candida albicans* Is an Immunogen for Anti-Saccharomyces cerevisiae Antibody Markers of Crohn's Disease. *Gastroenterology* [online]. roč. 130, č. 6, s. 1764–1775. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2006.02.009
- STANDAERT-VITSE, Annie, Boualem SENDID, Marie JOOSSENS, Nadine FRANÇOIS, Peggy VANDEWALLE-EL KHOURY, Julien BRANCHE, Herbert VAN KRUIJNINGEN, Thierry JOUAULT, Paul RUTGEERTS, Corinne GOWER-ROUSSEAU, Christian LIBERSA, Christel NEUT, Franck BROLY, Mathias CHAMAILLARD, Séverine VERMEIRE, Daniel POULAIN a Jean-Frédéric COLOMBEL, 2009. *Candida albicans* colonization and ASCA in familial Crohn's disease. *The American journal of gastroenterology* [online]. roč. 104, č. 7, s. 1745–1753. ISSN 1572-0241. Dostupné z: doi:10.1038/ajg.2009.225
- STRATI, F, D ALBANESE, C DONATI, D CAVALIERI, C DE FILIPPO, D RENZI, O JOUSSON, C DE FELICE, J HAYEK a A CALABRÒ, 2014. Characterization of fungal and bacterial communities in Rett syndrome patients. In: [online]. Dostupné z: http://hdl.handle.net/10449/24162

- TAN, T. C., K. G. SURESH, K. L. THONG a H. V. SMITH, 2006. PCR fingerprinting of Blastocystis isolated from symptomatic and asymptomatic human hosts. *Parasitology Research* [online]. roč. 99, č. 4, s. 459–465. ISSN 09320113. Dostupné z: doi:10.1007/s00436-006-0177-0
- TIE, M. L H a David H. STEPHENS, 2000. Candida jejunitis: A rare cause of intestinal pneumatosis in the immunocompromised patient. *Australasian Radiology* [online]. roč. 44, č. 2, s. 206–207. ISSN 00048461. Dostupné z: doi:10.1046/j.1440-1673.2000.00785.x
- TUNGTRONGCHITR, Anchalee, Sathaporn MANATSATHIT, Chomsri KOSITCHAIWAT, Jeerawan ONGROTCHANAKUN, Nantiya MUNKONG, Pisith CHINABUTR, Somchai LEELAKUSOLVONG a Wanpen CHAICUMPA, 2004. Blastocystis hominis infection in Irritable bowel syndrome patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. roč. 35, č. 3, s. 705–710.
- TURNBAUGH, Peter J, Ruth E LEY, Michael a MAHOWALD, Vincent MAGRINI, Elaine R MARDIS a Jeffrey I GORDON, 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* [online]. roč. 444, č. 7122, s. 1027–1031. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature05414
- VAN DER VELDEN, Walter J F M, Mihai G. NETEA, Anton F J DE HAAN, Gerwin a. HULS, J. Peter DONNELLY a Nicole M a BLIJLEVENS, 2013. Role of the Mycobiome in Human Acute Graft-versus-Host Disease. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [online]. B.m.: Elsevier Ltd, roč. 19, č. 2, s. 329–332. ISSN 10838791. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbmt.2012.11.008
- VASILIAUSKAS, Ea, Se PLEVY, Cj LANDERS, Sw BINDER, Dm FERGUSON, H YANG, Ji ROTTER, A VIDRICH a Sr TARGAN, 1996. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology* [online]. roč. 110, č. 6, s. 1810–1819. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/gast.1996.v110.pm8964407
- VERMEERSCH, B, M RYSSELAERE, K DEKEYSER, K RASQUIN, M DE VOS, A ELEWAUT a F BARBIER, 1989. Fungal colonization of the esophagus. *The American journal of gastroenterology*. roč. 84, s. 1079–1083. ISSN 00029270.
- VERNIER, Gwenola, Boualem SENDID, Daniel POULAIN a Jean Frédéric COLOMBEL, 2004. Relevance of serologic studies in inflammatory bowel diseases. *Current Gastroenterology Reports* [online]. roč. 6, č. 6, s. 482–487. ISSN 0030-6002. Dostupné z: doi:10.1556/OH.2007.28064
- VON ROSENVINGE, Erik C, Yang SONG, James R WHITE, Cynthia MADDOX, Thomas BLANCHARD a W Florian FRICKE, 2013. Immune status, antibiotic medication and pH are associated with changes in the stomach fluid microbiota. *The ISME journal* [online]. B.m.: Nature Publishing Group, roč. 7, č. 7, s. 1354–66. ISSN 1751-7370. Dostupné z: doi:10.1038/ismej.2013.33
- WALDMAN, A, A GILHAR, L DUEK a I BERDICEVSKY, 2001. Incidence of Candida in psoriasis - a study on the fungal flora of psoriatic patients. *Mycoses*. roč. 44, č. 3-4, s. 77–81.
- WANG, Linqi, Bing ZHAI a Xiaorong LIN, 2012. The link between morphotype transition and virulence in Cryptococcus neoformans. *PLoS Pathogens* [online]. roč. 8, č. 6. ISSN 15537366. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1002765
- WOTHERSPOON, A C, 1998. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. *British medical bulletin* [online]. roč. 54, č. 1, s. 79–85. ISSN 0007-1420. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199405053301803
- WU, Gary D, Jun CHEN, Christian HOFFMANN, Kyle BITTINGER, Ying-yu CHEN, A SUE, Meenakshi BEWTRA, Dan KNIGHTS, William a WALTERS, Rob KNIGHT, Erin GILROY, Kernika GUPTA, Robert BALDASSANO, Lisa NESSEL, Hongzhe LI, FD BUSHMAN a James D LEWIS, 2011. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* [online]. roč. 334, č. 6052, s. 105–108. Dostupné z: doi:10.1126/science.1208344.Linking
- WU, Cheng-Shyong, Shyi-Shane WU a Pang-Chi CHEN, 1995. A prospective study of fungal infection of gastric ulcers: clinical significance and correlation with medical treatment. *Gastrointestinal Endoscopy* [online]. roč. 42, č. 1, s. 56–58. ISSN 00165107. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-5107(95)70244-X

WU, Jinyan, Hong GUO, Guohui YI, Limin ZHOU, Xiaowen HE, Xianxi HUANG, Huamin WANG, Weiling XUE a Jianping XU, 2014. Prevalent drug resistance among oral yeasts from asymptomatic patients in Hainan, China. *Mycopathologia* [online]. 6., roč. 177, č. 5-6, s. 299–307 [vid. 30. listopad 2014]. ISSN 1573-0832. Dostupné z: doi:10.1007/s11046-014-9747-3

WU, T. a L. P. SAMARANAYAKE, 1999. The expression of secreted aspartyl proteinases of *Candida* species in human whole saliva. *Journal of Medical Microbiology* [online]. roč. 48, č. 8, s. 711–720. ISSN 00222615. Dostupné z: doi:10.1099/00222615-48-8-711

XU, Jianping a Thomas G MITCHELL, 2003. Geographical differences in human oral yeast flora. *Clinical infectious diseases* □: an official publication of the Infectious Diseases Society of America [online]. roč. 36, č. 2, s. 221–224. ISSN 1537-6591. Dostupné z: doi:10.1086/345672

YAMAGUCHI, N, R SUGITA, A MIKI, N TAKEMURA, J KAWABATA, J WATANABE a K SONOYAMA, 2006. Gastrointestinal *Candida* colonisation promotes sensitisation against food antigens by affecting the mucosal barrier in mice. *Gut* [online]. roč. 55, č. 7, s. 954–960. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2005.084954

YONG, Sherri, Houssam ATTAL a Gregorio CHEJFEC, 2000. Pseudomembranous gastritis: A novel complication of *Aspergillus* infection in a patient with a bone marrow transplant and graft versus host disease. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. roč. 124, č. 4, s. 619–624. ISSN 00039985.

YOSHIKAWA, Takao, 2008. *Characterization of Malassezia spp. in Oral Cavity of Dog* [online]. 2008. Dostupné z: doi:10.5466/ijoms.7.72

ZWOLIŃSKA-WCISŁO, M, A BUDAK, D TROJANOWSKA, J BOGDAŁ a J STACHURA, 2001. Fungal colonization of the stomach and its clinical relevance. *Mycoses*. roč. 41, č. 7-8, s. 327–334. ISSN 09337407.

ZWOLINSKA-WCISLO, M., Tomasz BRZOZOWSKI, A. BUDAK, S. KWIECIEN, Z. SLIWOWSKI, D. DROZDOWICZ, D. TROJANOWSKA, L. RUDNICKA-SOSIN, T. MACH, S. J. KONTUREK a W. W. PAWLIK, 2009. Effect of *Candida* colonization on human ulcerative colitis and the healing of inflammatory changes of the colon in the experimental model of Colitis ulcerosa. *Journal of Physiology and Pharmacology*. roč. 60, č. 1, s. 107–118. ISSN 08675910.

## 12. Přílohy

|          | pANCA (%) | ASCA (%) | PAB (%) | Anti-OmpC (%) | Anti-I2 (%) | Anti-flagellin (%) |
|----------|-----------|----------|---------|---------------|-------------|--------------------|
| CD       | 45-82     | 48-69    | 27-39   | 55            | 50          | 50                 |
| UC       | 2-28      | 5-15     | 3-23    | 2             | 10          | 6                  |
| Kontroly | 2,5       | 5        | 0       | 1,3           | 10          | 8                  |

Tabulka 4: Prevalence protilátek u IBD: OmpC—outer membrane porin C, PAB—pancreatic antibodies. Převzato a upraveno z Vernier, Sendid, Poulain, & Colombel (2004).

| Nejbližší příbuzný dle NCBI          | C –<br>n = 86 | C +<br>n = 87 | CD<br>n = 85 | UC<br>n = 80 | Stolice<br>n = 83 | Třída |
|--------------------------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|-------------------|-------|
| Uncultured ascomycete                | 16            | 5             | 4            |              |                   | a     |
| <i>Dothideomycete</i> sp.            | 11            | 6             |              | 1            |                   | a     |
| <i>Galactomyces geotrichum</i>       | 6             |               | 1            |              |                   | a     |
| <i>Candida albicans</i>              | 5             | 13            |              |              | 2                 | a     |
| <i>Septoria epambrosiae</i>          | 4             |               |              |              |                   | a     |
| <i>Candida dubliensis</i>            | 4             | 7             |              |              |                   | a     |
| <i>Botryotinia fuckeliana</i>        | 2             |               |              | 7            |                   | a     |
| <i>Paraphaeosphaeria filamentosa</i> | 2             |               |              |              |                   | a     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>  | 1             | 6             | 1            |              | 2                 | a     |
| <i>Candida austromarina</i>          | 1             |               | 4            |              |                   | a     |
| <i>Raciborskiomyces longisetosum</i> | 1             | 6             |              | 1            |                   | a     |
| <i>Sclerotium</i> sp.                | 1             | 3             | 1            | 2            |                   | a     |
| <i>Yarrowia lipolytica</i>           |               | 3             |              |              |                   | a     |
| <i>Fusarium oxysporum</i>            |               | 4             |              |              |                   | a     |
| <i>Madurella mycetomatis</i>         |               |               | 1            |              |                   | a     |
| <i>Sirococcus conigenus</i>          |               |               | 2            |              |                   | a     |
| <i>Aureobasidium pullulans</i>       |               |               | 1            |              |                   | a     |
| <i>Chaetomium globosum</i>           |               |               | 4            |              |                   | a     |
| <i>Penicillium chrysogenum</i>       |               | 4             | 5            |              | 2                 | a     |
| <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>      |               |               |              | 11           |                   | a     |
| <i>Pleospora herbarum</i>            |               |               |              | 12           |                   | a     |
| <i>Penicillium italicum</i>          |               |               | 4            |              | 27                | a     |
| <i>Penicillium sacculum</i>          |               |               | 4            |              | 9                 | a     |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i>      |               |               |              |              | 16                | a     |
| <i>Penicillium glabrum</i>           |               |               |              |              | 12                | a     |
| Uncultured fungal spp.               |               |               |              |              | 4                 | a     |
| <i>Saccharomyces cariocanus</i>      |               |               |              |              | 3                 | a     |
| <i>Candida glabrata</i>              |               |               |              |              | 3                 | a     |
| <i>Penicillium verruculosum</i>      |               |               |              |              | 1                 | a     |
| <i>Saccharomyces bayanus</i>         |               |               |              |              | 1                 | a     |
| <i>Ustilago</i> sp.                  | 6             |               | 2            |              |                   | b     |
| <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>      | 6             |               | 1            |              |                   | b     |
| <i>Cryptococcus carnescens</i>       | 4             |               |              |              |                   | b     |
| Uncultured basidiomycete             | 4             | 7             | 15           | 4            | 1                 | b     |
| <i>Bullera crocea</i>                | 4             |               | 7            |              |                   | b     |
| <i>Exidiopsis calcea</i>             | 3             |               | 2            |              |                   | b     |
| <i>Ustilago maydis</i>               | 3             |               | 2            |              |                   | b     |
| Uncultured ustilaginomycete          | 2             | 4             | 3            |              |                   | b     |
| <i>Cystofilobasidium capitatum</i>   |               | 10            |              |              |                   | b     |
| <i>Fomitopsis pinicola</i>           |               | 9             |              |              |                   | b     |
| <i>Trichosporon dermatis</i>         |               |               | 2            |              |                   | b     |
| <i>Tricholoma saponaceum</i>         |               |               | 1            |              |                   | b     |
| <i>Sporolobomyces yunnanensis</i>    |               |               | 5            |              |                   | b     |
| <i>Trametes versicolor</i>           |               |               | 1            | 15           |                   | b     |
| <i>Graphiola phoenicis</i>           |               |               | 1            |              |                   | b     |
| <i>Rhodotorula aurantiaca</i>        |               |               | 11           | 15           |                   | b     |
| <i>Dacrymyces</i> sp.                |               |               |              | 3            |                   | b     |
| <i>Filobasidium globisporum</i>      |               |               |              | 6            |                   | b     |
| <i>Flammulina velutipes</i>          |               |               |              | 3            |                   | b     |

Tabulka 5: OUT na úrovni druhu z jednotlivých sekvenovaných klonů. Zkratky: a = Ascomycetes, b = Basidiomycetes, C- = nezápálivá, C+ = zápálivá kontrola. Převzato a upraveno z Ott et al. (2008).