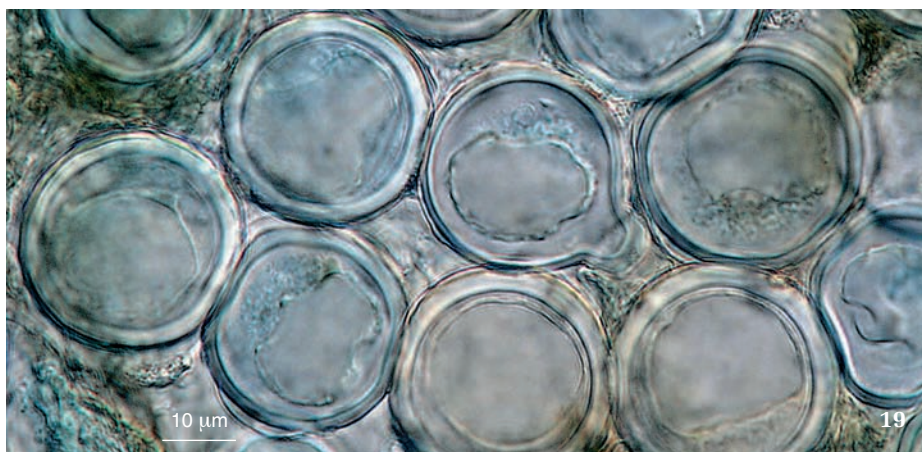


Jsou entomopatogenní houby užitečné pro člověka?

Stejně jako v přírodě hrají důležitou roli, tak i člověk našel jejich využití. Výše zmíněná housenice čínská je patrně nejstarší entomopatogenní houbou užívanou pro léčebné účinky (Antonín a kol. 2013). V tradiční čínské medicíně figuruje již 2 000 let a je velice ceněna pro své všestranné účinky (podpora dlouhověkosti, léčba chorob plic, srdce, ledvin, pohlavních orgánů apod.). Stromata této houby i s mumifikovanými housenkami jsou sbírána a téměř vyvažována zlatem, především na čínském trhu. Současné výzkumy objevily v droze přítomnost biologicky aktivních látek (kordycepin aj.); ovšem jistý skepticismus zůstává, možná také proto, že droga bývá často falšována. Intenzivní sběr v poslední době vyvolaný poptávkou může vést až k ohrožení housenice čínské v přírodě. V západním lékářství je známé entomopatogenní *Tolyposcladium inflatum* (masenkotvaré, teleomorfa *Cordyceps subsessilis*, obr. 18), příbuzné h. čínské. Jeho životní cyklus však není tak pevně vázaný na hmyz, žije obvykle v půdách chladnějších oblastí. Cyklosporin A, který produkuje, se využívá při transplantacích k potlačení imunitní reakce.

Nicméně těžiště použití entomopatogenních hub leží v oblasti zemědělství a lesnictví, kde přispívají ke kontrole škod-



livého hmyzu jako mykoinsekticidy (případně mykoakaricidy). Marcos R. de Faria a Stephen P. Wraight (2007) uvádějí, že takto bylo ve světě vyvinuto více než 170 produktů, z toho 43 % v Jižní Americe. Kupodivu se však z mnoha druhů entomopatogenních hub využívá jen několik málo (zvláště ty, které lze dobře kultivovat na umělých médiích): *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* a *B. brongniartii*. U nás se dříve používaly přípravky Boverol a Boverosil, založené na *B. bassiana* a vyráběné v 80. letech několika zemědělskými družstvy v bývalém Československu (Hromas 2012). I v nedávné

19 Hmyzomorka *Entomophthora destruens* tvoří na povrchu komára odpočívající spory. Štola na Rokycansku. Snímky A. Kubátové, není-li uvedeno jinak

minulosti (2007) byla tato houba experimentálně zapojena v boji proti lýkožroutu smrkovému (*Ips typographus*) na Šumavě (Landa a kol. 2007). Účinnost všech těchto biologických prostředků ochrany však kolísá, závisí na aktuálních přírodních faktorech a ekologických vztazích, mnohdy nedostatečně prozkoumaných.

Použitá literatura uvedena na webu Živy.

Pavína Lysková

Invazivní infekce vyvolané oportunními vláknitými houbami

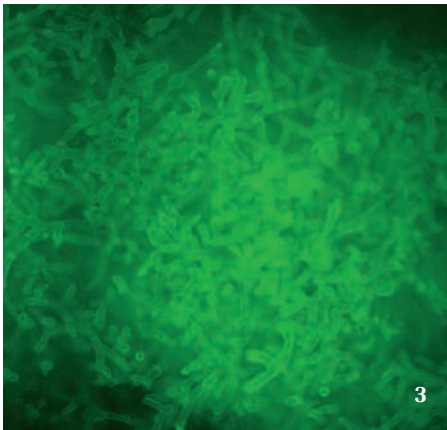
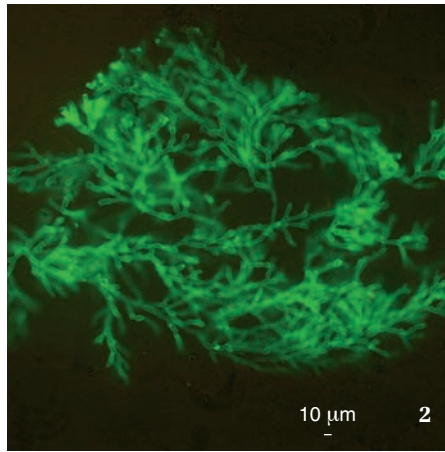
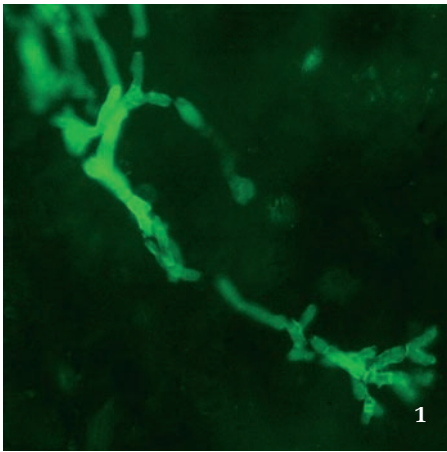
S vláknitými houbami se běžně setkáváme v každodenním životě, ale všimneme si jich, až když nám např. zplsnívá potraviny, ale asi nás hned nenapadne, že by mohly být zdrojem infekce, a že by dokonce mohlo jít o život. Existují sice skupiny hub primárně infikující kůži a kožní adnex (potní a mazové žlázy, nehty, vlasy ad.; např. dermatofyty – viz článek na str. 262 této Živy), avšak to jsou obvykle infekce povrchové nikoli systémové, které napadají vnitřní orgány. Vlákňité houby, jež mohou způsobovat invazivní infekce i u jinak zdravých jedinců, se u nás nevyskytují, jde o dimorfní původce tzv. endemických mykóz (např. *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* – kazirohotvaré, Onygenales, vřeckovýtusné houby – Ascomycota) vyskytující se ve dvou růstových fázích v závislosti na podmínkách prostředí – ve formě vláknité a kvasinkové. Člověk si je může přivést jako suvenýr z cest po oblastech jejich přirozeného výskytu (např. v Severní Americe nebo jižní Asii). Houby žijící v našich podmínkách mohou působit alergenně nebo produkovat toxiny do potravin a vyvolávat mykotoxikózy (blíže v článku na str. CXXXIII kulérové přílohy). Z pohledu invazivní infekce jsou však vláknité mikroskopické houby pro většinu zdravých jedinců zcela neškodné, a proto je nazýváme jako oportunní (příležitostné) patogeny.

Aby patogen mohl vyvolat systémovou infekci u člověka, musejí být na straně hostitele přítomny určité rizikové faktory. Nejčastěji jsou to onemocnění, která vedou

k oslabení imunity. Houby pak mohou překonat přirozené obranné mechanismy hostitele, což se jim jinak nepodaří. Existují skupiny pacientů s dispozicemi pro rozvoj

infekcí způsobených právě oportunními vláknitými houbami. Jednu z nejrizikovějších představují pacienti s rakovinou krevetorných buněk (leukémií), kdy zejména výrazný pokles bílých krvinek neutrofilů (neutropenie) v důsledku léčby cytostatiky umožní vznik a rozvoj těchto infekcí. Dále to mohou být např. pacienti po transplantacích orgánů, kteří doživotně užívají kortikosteroidy k potlačení imunity, nebo HIV pozitivní, resp. nemocní AIDS. Obecně platí, že čím horší imunita, tím horší (rychlejší) průběh houbové infekce. U těžce imunokompromitovaných pacientů invazivní infekce často končí fatálně. Nákazy oportunními vláknitými houbami bývají nejčastěji exogenní – získané z prostředí, na rozdíl od endogenních, kdy se zdrojem stává pacientova vlastní mikroflóra (např. kvasinkové infekce). Nejčastější oportunní infekcí v našich podmínkách je aspergilóza a jejím hlavním vyvolavatelem kropidlák *Aspergillus fumigatus* (plesnivkotvaré – Eurotiales, vřeckovýtusné houby; viz dále).

Diagnostika infekcí vyvolaných vláknitými houbami nemusí být snadná. Tyto houby mohou pacienta přechodně kolonizovat nebo být pouhou kontaminací. Jejich spory jsou všudypřítomné, takže je obvykle vdechneme, a tím se dostanou do plic, kde je imunitní systém posléze eliminuje fagocyty (plicními alveolárními makrofágy). Proto nemusí být vyhodnocení nálezu vláknitých hub z klinického vzorku jednoduché. Když izolujeme *A. fumigatus* ve sputu (sekretu vykašlávaném z dýchacích cest), jde o kolonizaci, nebo už o infekci? Kromě mikrobiologických nálezů lékaři hodnotí klinické příznaky (ty však jsou u těchto infekcí nespecifické; kašel, horečka, bolest na hrudi atd.), nálezy pořízené



1 až 3 Průkaz hyf náležejících zástupcům rodu kropidlák (*Aspergillus*) ve vzorku hrudního punktátu (obr. 1, foto M. Kolařík) a hyf mukormycetů ze vzorku plicní tkáně (2 a 3) ve fluorescenčním mikroskopu po obarvení blankoforem

zobrazovacími metodami (mimo jiné počítačovou tomografií, magnetickou rezonancí) a rizikové faktory na straně pacienta (především imunosuprese). Existují EORTC/MSG kritéria (s dlouhým názvem European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group), která definují tři diagnózy oportunních infekcí podle diagnostické jistoty na mykotickou infekci prokázanou, pravděpodobnou a možnou. Aby byla „prokázána“, musíme vláknitou houbu izolovat z primárně sterilního materiálu, např. z tkáně nebo krve, kterou se kvasinková forma některých vláknitých hub šíří při invazivní mykóze do dalších orgánů. Ne vždy je však možné odebrat vzorek tkáně a málokdy se podaří prokázat houbu v krvi. „Pravděpodobná“ diagnóza vyžaduje přítomnost alespoň jednoho kritéria z každé kategorie – rizikové faktory u hostitele, klinická (např. nález na zobrazovacích metodách) a mykologická kritéria (např. nález z nesterilních materiálů). „Možná“ infekce nastává v případech, že rizikový pacient má klinické příznaky, ale mikrobiologický průkaz patogenu chybí.

Metody diagnostiky

Histologie, mikroskopie a kultivace patří mezi konvenční (klasické) diagnostické metody (viz také Živa 2017, 4: CV–CVIII). Histologické vyšetření vzorku je k prokázání

zánětu vláknitými houbami zcela zásadní. Zkušený patolog je navíc schopen podle morfologie a pigmentace hyf rozlišit mezi hyalohyfyomykózou (infekcí houbami s hyalinními hyfami, nejčastěji z rodu kropidlák – *Aspergillus*), feohyfyomykózou (tmavě pigmentované houby, např. *Alternaria*) a mukormykózou (infekce z pododdělení Mucoromycotina, např. rod *Rhizopus*). Výtěžnost konvenčních metod je však nižší (např. v porovnání s polymerázovou řetězovou reakcí, PCR) v závislosti na pokročilosti stavu infekce, odebraném vzorku, zvolených vyšetřovacích metodách atd. Co se týče mikroskopického vyšetření, opět záleží, jakou metodu zvolíme. Třeba Gramovo barvení, běžně užívané v mikrobiologii k průkazu bakteriálních infekcí, má v tomto případě nižší výtěžnost v porovnání s metodami, které vzorek obarví fluorescenčními barvivy (např. kalkofluor nebo blankofor). Mikroskopické vyšetření je velmi přínosné, protože umožňuje hodnocení morfologie hyf, a navíc rychlé (výsledek je k dispozici druhý den). Jejich tvar, šířka, větvení, přítomnost přepážek (sept) poskytují důležité informace – mohou napovědět, zda jde o aspergilózu (vyskytuje se nejčastěji), nebo o agresivní mukormykózu vyžadující rychlou léčbu. Aspergilové hyfy mají poměrně typický vzhled – „štíhlé“ (3–6 µm v průměru), uniformní, septované s vidličnatým, tedy dichotomickým větvením (obr. 1). Naproti tomu hyfy mukormycetů jsou mnohem širší (10–15 µm v průměru), pentlicovité a hlavním znakem je, že postrádají septa nebo jich mají málo (jsou coenocytické, obr. 2–3).

V praxi se často stává, že i když hyfy nalezneme v mikroskopickém preparátu (třeba i ve velkém množství), v kultivaci pak nevyrostou. Přitom izolace houby je velice důležitá, a to nejen protože bychom mohli identifikovat nějaký neobvyklý druh (na základě morfologie a sekvenace DNA, uložit ho do veřejné sbírky a napsat krátké sdělení do specializovaného časopisu, případovou studii). Potřebujeme otestovat citlivost kmene k systémovým antimykotikům *in vitro*. V posledních letech došlo v tomto směru ke značnému pokroku a standardizovaly se metody pro testování citlivosti. V kultivaci pak můžeme posoudit základní faktor virulence, kterým je růst při 37 °C. Pokud houba roste při běžné tělesné teplotě, pak má teoreticky schopnost vyvolat systémovou infekci. Kultivace se provádí na Sabouraudově glukózovém (dextrózovém) agaru při teplotě 35 °C (obr. 8).

Měla by být prodloužena na 1–2 týdny, protože některé houby rostou pomaleji (u dermatofytů až na měsíc). Vždy je nejlepší vzorek, který lze označit za primárně sterilní – hlavně postižená tkáň. Např. při podezření na plicní infekci by bylo vhodné vyšetřit plicní tkáň (obr. 6). Ovšem ne vždy je možné u pacientů, kteří jsou v kritickém stavu odebrat takový materiál. Při podezření na plicní aspergilovou infekci je vhodnou alternativou bronchoalveolární tekutina (BAT). Negativní výsledek však neznamená vyloučení infekce. Vzorek mohl být odebrán v místě, kde se houba nevyskytovala. Ideální je odebrat co nejvíce materiálu, ovšem v praxi to často není reálné. Navíc se vzorky rozdělují na jiná vyšetření (mikrobiologická, virologická, parazitologická atd.). Hemokultury (na kultivaci krve) by měly být při podezření na systémovou infekci odebrány vždy, přestože u infekcí vyvolaných mikromycety je jejich výtěžnost velmi nízká.

Pro usnadnění a urychlení diagnostiky houbových infekcí byly vyvinuty další markery, např. detekce antigenů z krve (sérum). Výborným nástrojem v případě invazivních aspergilových infekcí je antigen galaktomanan (GM). Uvolňuje se při dělení a růstu hyf a tak dokládá, že houba je metabolicky aktivní, což pro nás znamená podstatnou informaci, protože *Aspergillus* se v našem těle nemá co dělat a růst. Zachycení GM z krve je však určitým způsobem limitováno, je vždy lepší ho zjišťovat z místa předpokládané infekce – nejčastěji plíce, takže nejlépe z BAT.

Dalším antigenem, který můžeme v diagnostice mykotických infekcí využít, je tzv. panfungální antigen (1,3)-β-D-glukan (BG). Panfungální proto, že ho uvolňují různé druhy hub (kvasinky, vláknité houby i *Pneumocystis jirovecii* – Pneumocystales, věckovýtrusné houby). To představuje jednu z nevýhod, protože na rozdíl od GM neposkytne informaci, o jakou houbu jde. Lékař tedy musí „mít určité podezření“ (např. na kvasinkovou systémovou infekci) a hladina BG pak jeho podezření potvrdí, nebo vyvrátí. Nespecifita testu vede k vyššímu procentu falešně pozitivních výsledků, na druhou stranu negativní výsledek má vysokou prediktivní hodnotu pro vyloučení infekce. Ještě je třeba upozornit, že některé houby uvolňují BG v malých množstvích, takže test není vhodný např. pro diagnostiku mukormykózy a kryptokokózy (vyvolané kvasinkou *Cryptococcus neoformans* – z řádu rosolovkovitvaré – Tremellales, stopkovýtrusné houby – Basidiomycota, přenašené nejčastěji holubím trusem). U aspergilových infekcí bývá BG v krvi přítomen dříve než GM, takže je citlivějším ukazatelem.

V diagnostice mykotických infekcí jsou rozhodně přínosné PCR metody založené na průkazu DNA hub. Je však důležité výsledek správně interpretovat. Pokud byla DNA houby detekována z primárně sterilního materiálu (např. z tkáně), pak s největší pravděpodobností máme původce. Jinak tomu ale bude při analýze vzorků z nesterilních lokalit a materiálů (např. ze sputa nebo BAT), kde si musíme být vědomi, že průkaz DNA nemusí znamenat průkaz patogenu, ale pouze vyskyt např. vdechnutých spor daného druhu houby.

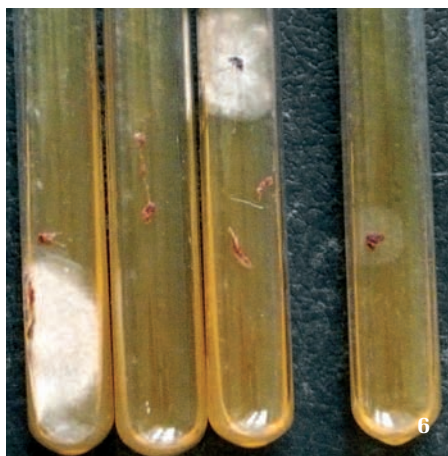
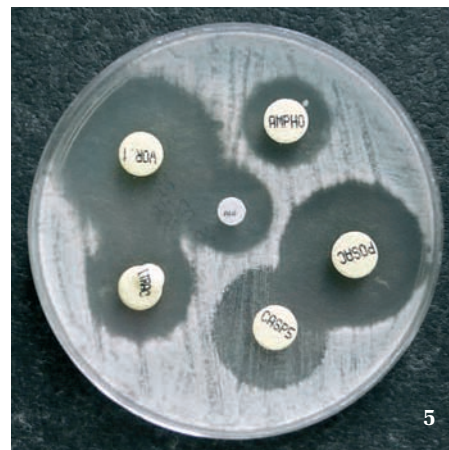
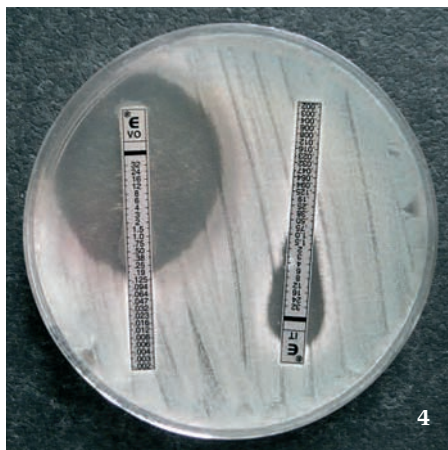
Každá z výše uvedených metod má svou výhodu i nevýhodu, proto je nejlepší metody kombinovat. „Preventivní“ léčba pouhé kolonizace vláknitou houbou určitě není žádoucí, ať už z důvodu vysoké ceny antimykotik, vedlejších účinků většiny preparátů, nebo možnosti selekčního tlaku a vzniku rezistentních kmenů.

Co se týče nejčastějších cest vstupu infekce do těla, již jsme uvedli, že jde o vdechnutí konidií. Proto k nejběžnějším typům (invazivních) infekcí patří infekce plic a vedlejších dutin nosních. Vstup mikromycetů do těla umožňuje i trávicí trakt, zavedené katétry či traumata (rány, popáleniny apod). Pokud není infekce zničena nebo ohraničena, může dojít k prorůstání a šíření houby do dalších orgánů a také k jejímu rozsevu krevní cestou (hematogenní disseminaci) do vzdálenějších orgánů (např. rozsev z plic do jater, ledvin, mozku, kostí). Disseminované infekce mívají horší prognózu a bývají spojeny s vyšší úmrtností.

Aspergilózy, mukormykózy a fuzariózy

Jak bylo zmíněno, nejčastějším typem invazivní oportunní infekce v našich podmínkách je aspergilóza. Vzácněji se může setkat s mukormykózou a fuzariózou. Většinu aspergilových infekcí způsobuje kropidlák *A. fumigatus*, vzácněji *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans* ad. Převládá postižení plic, následované infekcemi vedlejších dutin nosních. Pokud není nákaza diagnostikována včas, může docházet k rozsevu. Velmi užitečný je v tomto případě průkaz galaktomananu. *A. fumigatus* bývá dobře citlivý k antimykotikům (vorikonazol, amfotericin B, itraconazol a posakonazol). V posledních letech však bylo zjištěno, že se u něho může rozvíjet rezistence k azolovým antimykotikům (vorikonazol, itraconazol, posakonazol) v souvislosti s používáním pesticidů (fungicidů) v zemědělství. Terapie pak může být obtížná. Stále lepší diagnostika a přesnější identifikace pomocí molekulárních metod také ukázaly, že se v klinickém materiálu vyskytují kryptické druhy. Morfologicky vypadají např. jako *A. fumigatus*, avšak může jít třeba o *A. lentulus*, *A. felis* nebo *A. udagawae*, řada z nich byla teprve nedávno popsána jako nové pro vědu. Některé kryptické druhy vykazují odlišný profil citlivosti a mohou být rezistentní k léku první volby (vorikonazolu) i dalším antimykotikům. Infekce multirezistentními kmeny jsou spojeny se zvýšenou mortalitou, z tohoto důvodu zůstává správné určení původce invazivní aspergilózy a stanovení jeho citlivosti v laboratoři zcela zásadní.

Mukormykóza je naproti tomu poměrně vzácná. Kromě pacientů s nízkou hladinou neutrofilů nebo léčených vyššími dávkami kortikoidů ohrožuje rovněž nemocné cukrovkou. Jde hlavně o druhy *Rhizopus oryzae*, *R. microsporus* a *Lichtheimia corymbifera* (Mucorales, spájkivé houby – Mucoromycota). Invazivní mukormykóza mívá špatnou prognózu, zejména při rozšíření nebo při lokalizaci ve vedlejších dutinách nosních, pokud se dostane až do mozku. Antimykotická terapie (amfotericin B) obvykle nevede k uzdravení, proto je třeba ložisko odstranit chirurgicky. Rané infekce rozvíjející se i u zdravých jedinců (např. po traumatu) mívají dobrou prognózu.



4 a 5 Testování citlivosti *in vitro* – kvantitativně metodou Etestu (obr. 4) a kvalitativně diskovou difúzí (5). Blíže v textu na webové stránce Živý **6** Kultivace plicní tkáňe na Sabouraudově dextrózovém agaru a nárůst *Rhizopus microsporus* po 24 hodinách (tři zkumavky vlevo při 35 °C, jedna vpravo při 25 °C) **7** Kultivační průkaz kropidláku *A. niger* a kvasinek ze sputa u pacientky s chronickou plicní aspergilózou (Sabouraudův dextrózový agar, po 48 hodinách). Snímky P. Lyskové, není-li uvedeno jinak

Dalším vzácným typem infekce, s nímž bychom se mohli u pacientů s oslabenou imunitou setkat, je fuzarióza. K původcům patří *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. solani* nebo *F. oxysporum* (masenkovitvaré – Hypocreales, vřeckovýtusné). Do těla se opět dostávají nejčastěji vdechnutím a vytvářejí kvasinkovou formu, která se může šířit – bývá popisován vznik bolestivých sekundárních kožních ložisek. Jako doporučená terapie se uvádí vorikonazol, případně doprovázený chirurgickým zákrokem. Je však potřeba upozornit, že multirezistentní druhy *F. solani* a *F. oxysporum* nebývají (na rozdíl od *F. verticillioides*) k vorikonazolu citlivé, některé kmeny *in vitro* vykazují citlivost k amfotericinu B. Infekce odolnými kmeny opět mívají pro nemocné fatální následky.

Ačkoli se spektrum systémových antimykotik za poslední roky rozrostlo, stále se

dá považovat za poměrně omezené. Vzhledem k tomu, že houbové infekce postihují hlavně pacienty se značně oslabenou imunitou, měly by mít při léčbě přednost fungicidní preparáty. Přesto se nezdá stávat, že pokud nedojde ke zlepšení imunitního stavu, nebudou postižení dostatečně reagovat na léčbu anebo může docházet k relapsům (znovuzvplanutí infekce). Některé druhy hub jsou dokonce rezistentní ke všem dostupným systémovým antimykotikům (např. *Scedosporium prolificans*, *Microascales*, vřeckovýtusné). V terapii se pak kromě léků často využívá chirurgická léčba.

Na závěr lze říci, že invazivní oportunní mykotické infekce u lidí s oslabenou imunitou jsou velmi závažné a vyžadují včasnou diagnostiku a léčbu.

Práce byla podpořena z grantu Univerzity Palackého v Olomouci (IGA_LF_2017_031).

Doporučenou literaturu a rozšířený text spolu s dalšími obrázky najdete na webové stránce Živý.

