

hovězího dobytka. Houba má tendenci prorůstat podkoží, a pokud původce není včas odhalen, může dojít i k rozvoji hluboké mykózy spojené s celkovými projevy (zvýšená teplota, zvětšení lymfatických uzlin).

Naše studie dermatofyt v České republice probíhající prozatím rok odhalila výskyt některých kryptických druhů, které tedy prakticky nemáme možnost poznat podle morfologie. Jejich odhalení je možné buď molekulárními metodami, nebo zjištěním reprodukční bariéry mezi druhy. Proto většinou unikají naší pozornosti. Jedním z nich je např. druh *Microsporum fulvum* (obr. 1), který je morfologicky téměř neodlišitelný od známějšího *M. gypseum*.

7 Kruhovitá léze na zápěstí způsobená rodem *Trichophyton* ze skupiny dermatofyt (*tinea corporis*). Nákaza vznikla přenosem ze zvířete.

8 Plodnice druhu *Myxotrichum chartarum* opatřená četnými přívěsky. Izolát kultivovaný z odběru při podezření na onychomykózu. Snímky: V. Hubka (1–6, 8) a N. Mallátová (7)

Choroby způsobené nedermatofytickými houbami tvoří v ČR zhruba jen desetinu všech povrchových mykóz, což je podstatně méně než např. v tropech. Na některých částech těla jsou však NVH jasně četnější než dermatofyta. Týká se to zejména zánětu středního ucha (mykotická *oti-*

*tis externa*, otomykóza) a vzácně se vyskytující infekce rohovky (mykotická keratitida). Zatímco v případě otomykózy je původcem hlavně rod *Aspergillus*, spektrum hub působících keratomykózu je širší a její vznik často souvisí s nošením kontaktních čoček, nebo zanesením houby přímo do rohovky při poranění. Velmi komplexní je problematika určování NVH pocházejících z odběrů při podezření na onychomykózu. Řada druhů vyžaduje speciální kultivační podmínky a k tomu přistupuje nepřehledné množství druhů, které odběry kontaminují, nebo se vyskytují jako vzácné patogeny (obr. 8). Mezi nejčastěji izolované rody patří *Fusarium*, *Scopulariopsis* a *Aspergillus*. Někteří zástupci jsou i významnými producenty mykotoxinů. O jejich podílu na rozvoji nemoci existují však velmi omezené údaje.

Lékařská mykologie je prudce se rozvíjející obor, který dohání pomyslný náskok ostatních mikrobiologických disciplín, za nimiž byla mykologie dlouho upozaděna. Onemocnění působená houbami nabývají stále většího medicínského významu a více než kde jinde v mykologii platí, že řada objevů teprve čeká na své odhalení. Různorodost vláknitých hub je téměř nekonečná a vnáší do práce mykologů neopominutelný estetický rozměr. Kontext pacienta, jeho onemocnění a léčby pak práci dává hlubší smysl, což dělá lékařskou mykologii velmi zajímavým a perspektivním oborem.

Václav Kůdela

## Úloha rostlin v epidemiích způsobovaných toxigenními kmeny střevní bakterie *Escherichia coli*

Od počátku května 2011 byla evropská informační média po několik týdnů zaplavována znepokojivými zprávami o šíření virulentního kmene bakterie *Escherichia coli*, který vyvolal vážná onemocnění u téměř čtyř tisíců lidí v severních spolkových zemích Německa a v dalších 13 evropských zemích (mimo jiné ve Švédsku, Dánsku, Velké Británii a Rakousku). Lidé znejistěli, když se dovídali, že k závažnému onemocnění ohrožujícím život může dojít po konzumaci čerstvé zeleniny. Existence původců zoonóz (nákaz přenosných ze zvířat) je dnes již obecně známa, naproti tomu povědomí veřejnosti o patogenních mikroorganismech přežívajících na rostlinách a ohrožujících zdraví člověka zůstává stále velmi nízké.

Cílem tohoto příspěvku je shrnout klíčové události výše uvedené německé epidemie z loňského roku, které mohou sloužit jako negativní i pozitivní příklad při řešení obdobných epidemií v budoucnu, a tedy: specifikovat úlohu rostlin v epidemiích ohrožujících člověka, na nichž se podílejí toxigenní kmeny střevní bakterie *E. coli*,

poukázat na skutečnost, že tato a jí obdobné epidemie nejsou jen ryze problémem zdravotnickým, ale i ekonomickým, který bezprostředně postihuje pěstitele zeleniny, ovoce a následně potravinářský průmysl, tuzemský i mezinárodní obchod, a shrnout zásady prevence nákazy z rostlinných zdrojů.

### Zkušenosti z německé epidemie

Epidemické onemocnění bakterií *E. coli*, které propuklo v severním Německu, se projevvalo krvácivým průjmem (hemoragická kolitida) a v některých případech rozkladem červených krvinek a akutním selháním ledvin (hemolyticko-uremický syndrom – HUS). Podle údajů z konce června 2011 byl z celkového počtu 4 055 postižených u téměř 22 % průběh nemoci těžký (s hemolyticko-uremickým syndromem) a 1,2 % osob zemřelo. Případy ojedinělých výskytů infekce mimo Německo se většinou týkaly osob, které z této země vycestovaly (v České republice např. americká turistka).

Za původce hemoragické kolitidy a hemolyticko-uremického syndromu byl označen kmen *E. coli*, serotyp O104:H4 (serologická charakterizace se vztahuje na antigen jedné buňky a jedné bičíku). Jde o poměrně vzácný serotyp kombinující vlastnosti enteroagregativních *E. coli* (vyvolávajících cestovatelské vodnaté průjmy bez zvracení a průjmová onemocnění u dětí) spolu se schopností tvorby Shiga toxinu (způsobujícího u různých typů buněk napadeného organismu změny v hladině cytokinů). Vzniklé obtíže se neomezily jen na střevní infekci, zároveň docházelo také k systémovým onemocněním, která končila až úmrtím postižených. Mezi nemocnými byl zaznamenán vysoký podíl osob středního věku, především žen. V dřívějších epidemiích šlo spíše o děti nebo starší jedince s oslabenou imunitou.

Od počátku epidemie se předpokládalo, že zdrojem nákazy je potrava, přičemž nebyla prokázána souvislost s požitím nedostatečně tepelně upraveného masa nebo

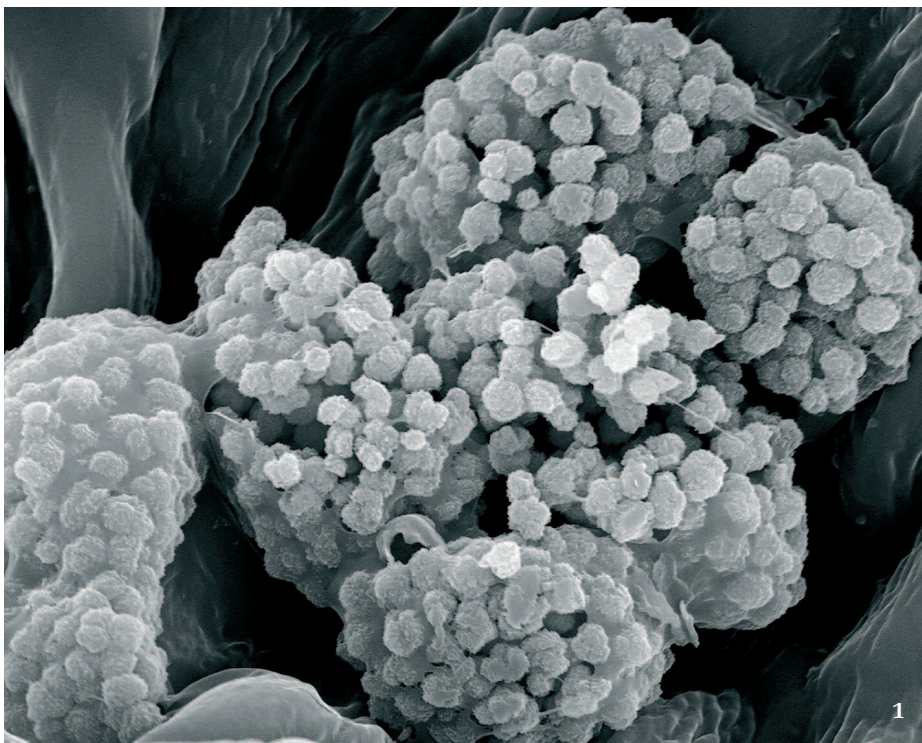
syrového mléka, jak tomu zpravidla bylo v minulých epidemiích způsobených *E. coli*. Předběžná šetření německých zdravotnických institucí potvrdila významnou souvislost mezi nemocí a konzumací syrových rajčat, čerstvých okurek a salátů. Jako zdroj byly označeny okurky dovezené ze Španělska. Prvotní sdělení původu nákazy se však později ukázalo mylné – *E. coli* se na okurkách sice vyskytovala, ale nikoli patogenní serotyp O104:H4. Spotřebitelé v evropských zemích reagovali na informace o způsobu šíření epidemie tím, že ustoupili od nákupu nejen okurek, ale i další zeleniny, kromě výše uvedených druhů rovněž papriky, cukety a čekanky. Poněkud hysterické chování mělo v řadě států za následek rozvrat trhu s čerstvou zeleninou.

Experti Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) vydali 5. 7. 2011 prohlášení, kde jako možný zdroj nákazy uvedli *E. coli* O104:H4 ze semen pískavice řecké seno (*Trigonella foenum-graecum*) importované z Egypta. Jako náhradu škod vzniklých následkem mylné informace o způsobu zavlečení a šíření toxigenní *E. coli* v Německu a dalších zemích získali evropští pěstitelé vybraných druhů zeleniny z rozpočtu Evropské unie částku 210 milionů eur (více než pět miliard Kč).

### Prospěšnost a škodlivost *E. coli*

Tento druh bakterie tvoří více než 700 různých kmenů – podskupin uvnitř druhu, které se od sebe liší fyziologickými znaky (podle schopnosti využívat odlišné zdroje uhlíku), životním cyklem, patogenními vlastnostmi (vyvolávají onemocnění v různých živočichů), přizpůsobením pro život ve specifickém prostředí, případně způsobností odolávat působení antimikrobiálních látek. Značná variabilita *E. coli* je podmíněna (podobně jako u jiných bakterií) schopností šířit genetický materiál v rámci populace horizontálně – přenosem částí DNA při přímém kontaktu buněk, pomocí bakteriofágů (virů napadajících bakterie), nebo přímo (viz také seriál Horizontální přenos genetické informace; Živa 2006, 1–6). Horizontálním přenosem úseků DNA vznikly rovněž kmeny *E. coli* škodlivé pro člověka. K určení kmenů izolovaných z klinických vzorků se tradičně používají rozdíly v antigenních vlastnostech. Odlišnosti jsou však někdy detekovatelné pouze molekulárními diagnostickými postupy (využívajícími polymerázovou řetězovou reakci – PCR).

Bakterie *E. coli* se vyskytují přirozeně v zažívacím traktu zdravých teplokrevných organismů (savců a ptáků). Značné množství se nachází v tlustém střevě, kde jsou prospěšné tím, že zkvašují cukry a vytvářejí kyselinu mléčnou. Populace *E. coli* svými kyselými produkty a antibiotickými látkami (koliciny) účinně regulují složení mikrobiálního společenstva střev (např. brání pomnožení patogenů) a výrazně se podílejí na tvorbě vitamínů (např. vitamínu K). Pro člověka bývají škodlivé ve dvou případech. Pokud se dostanou mimo střevní trakt a v napadených orgánech vyvolávají zánětlivé procesy (např. zánět močových cest nebo žlučníku). A dále jde-li o některý z kmenů 6 typů střevní *E. coli* vyznačujících se specifickými vlastnostmi.



Zvlášť nebezpečné jsou kmeny, jejichž patogenita spočívá ve schopnosti přichytit se na sliznici střeva, produkovat toxiny, které usmrcují hostitelské buňky a vyvolávají u člověka akutní onemocnění až hemolyticko-uremický syndrom. K nejznámějším škodlivým kmenům patří *E. coli* O157:H7 a po epidemii v Německu i kmen O104:H4. První zprávy o enterohemoragických kmenech *E. coli* pocházejí z r. 1982, ale následně pátrání v bakteriologických sbírkách ukázalo, že několik izolátů původem z USA, Kanady a Velké Británie bylo do sbírek uloženo již dříve.

### Přirozený výskyt patogenních *E. coli*

Kmeny *E. coli* způsobující onemocnění se vyskytují uvnitř střev přežvýkavců (hovězího dobytka, koz, ovcí a jelenů), odkud jsou spolu s výkaly pravidelně vylučovány. Tyto bakterie se ke svým hostitelům chovají jako neškodní komenzálové, takže jejich nositele lze považovat za přenašeče. Když se mikrobiologicky analyzovala kravská lejna v chovech dojníc, četnost pozitivních nálezů *E. coli* se pohybovala v rozmezí 0,2–49 %. Počet vylučovaných bakterií *E. coli* O157:H7 nebývá velký, ale v chovech dobytka se mohou vyskytovat jedinci (ve stádě v počtu až okolo 20 %), které můžeme označit jako „supervylučovače“ s nadprůměrným množstvím patogenů *E. coli* v exkrementech.

### Zvířata – první zdroj

Z analýz případů zvýšeného výskytu onemocnění způsobených v různých částech světa v letech 1982–2006 patogenními kmeny *E. coli* vyplynulo, že se na člověka přenáší v různém rozsahu několika způsoby. Nejčastěji jsou příčinou potraviny (zhruba 55 %, z toho mlékařenská výrobky asi 13 %), přímý styk se zvířaty (8 %), voda (7 %, pití kontaminované vody, koupání v kontaminovaných vodních tocích a bazénech) a také nepřímým stykem v okolí dobytčích farem (asi 2 %). Neobjasněno zůstalo kolem 28 % případů.

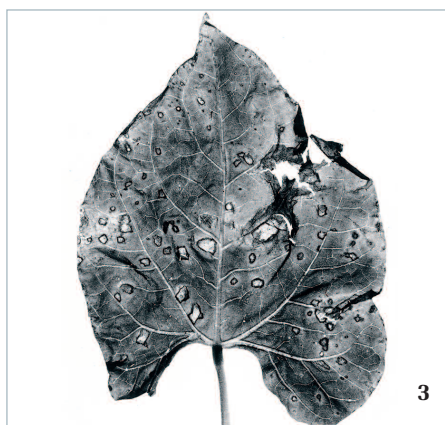
**1** Bakteriální agregáty taxonomicky neidentifikovaného druhu na spodní straně listů zlatice (*Forsythia* sp.) v elektronovém mikroskopu.  
Foto J. Jokeš

Z potravin živočišného původu jde o prokázanou konzumaci nedopečených hamburgerů z hovězího masa, křehčených bifteků, řezů kebabu (skopové maso k opékání na rožni), mražených jídel z kuřecího, vepřového a hovězího masa, salámů, nakládané zvěřiny, sýrů, mléka (nepasterizovaného), másla, jogurtů a zmrzliny. Maso může být kontaminováno na jatkách během porážky a poté při vlastním zpracování. Do mléka se bakterie dostávají z nedokonale omytých kravských vemen nebo dojících strojů.

### Voda a rostliny – další nositelé a šířitelé nákazy

Z fekálií zvířat a člověka se nepatogenní i patogenní kmeny *E. coli* dostávají do vnějšího prostředí – vody, půdy a na rostliny. Nepatogenní kmeny jsou v tomto případě považovány za indikátory znečištění, k přežívání ve volné přírodě ale nejsou dostatečně vybaveny, neboť nevytvářejí spory – stadium, v němž by mohly přežít nepříznivé podmínky. Jelikož však jde o gramnegativní bakterie, jejich buněčná stěna je tvořena vedle tenké vrstvy peptidoglykanu i vnější membránou, která propůjčuje poměrně značnou odolnost k chemickým, fyzikálním i mikrobiálním vlivům okolí.

Ke kontaminaci vodních zdrojů *E. coli*, včetně patogenního kmene O157:H7 a pravděpodobně i O104:H4, dochází zpravidla po předcházejících prudkých a dlouhotrvajících lijácích, kdy voda spláchně zeminu a rostlinné zbytky z polí hnojených kravskou mrvou (nebo kejdou), případně z pastvin, kde se pase hovězí dobytek nebo ovce. Hromadné výskyty průjmových onemocnění byly zaznamenány u rekreatantů pobývajících u znečištěných řek, jezer



a rybníků a dále u osob, které požíly kontaminovanou vodu nebo led. Na povrch rostlin se *E. coli* dostane při zavlažování postřikem nebo aplikací pesticidů s použítým kontaminovanou vodou, přímým kontaktem se znečištěnou zemínou při větrných deštích, během obdělávání půdy v době vegetační sezony a při sklizni, případně přenosem nakaženým hmyzem z hnojišť, dobytčích a ovčích výkalů na pastvinách.

### Přežívání *E. coli* na povrchu rostlin a prevence

V potravinách rostlinného původu byli původci hemoragických kolitid a hemolyticko-uremického syndromu prokázáni u vinných hroznů, hlávkového salátu, špenátu, kyselého zelí, ředkviček, melounu, v jablečné šťávě, na čerstvých výhonech a klíčících rostlinách různých druhů, ale také na již zmíněných semenech pískavice řecké seno, která se využívají v tradiční čínské medicíně. I když rostliny nejsou hlavními nosiči infekce, je zřejmou skutečností, že dosud největší epidemie s účastí *E. coli* vypukla v Japonsku po požití ředkvičkového salátu ve školní jídelně, kdy onemocnělo téměř 8 tisíc školáků.

Rostliny mohou na svém povrchu přechovávat nepatogenní i patogenní kmeny *E. coli*. Střevní patogeny se výrazně liší schopností osídlit rostlinný povrch. U některých se dokonce vyvinul aktivní mechanismus kolonizace, tedy způsobilost pevně se přichytit a přetrvávat na rostlině dlouhou dobu, až do sklizně i po ní. Když se střevní bakterie dostanou na povrch listů, musí o zdroje živin soutěžit se zástupci rezidentské mikroflóry, kteří jsou k přežívání ve fyloplanu (mikroprostředí na listu) dobře přizpůsobeni (např. mnohé druhy gramnegativních i grampozitivních bakterií). Z toho lze vyvodit praktický závěr, že pokud bychom chtěli střevní *E. coli* na povrchu listů potlačit širokospektrou dezinfekcí, může být takový postup kontra-

produktivní, neboť se tím sníží zastoupení přirozené fyloplanní mikrobiální populace a této bakterii se naopak uvolní prostor pro obsazení prázdné niky.

Osud buněk *E. coli* na povrchu rostlin (podobně jako jiných neftytopatogenních bakterií spjatých s fyloplanem) závisí na tom, zda jsou na rostlině rozptýleny osamoceně, nahloučeny ve formě agregátů (obr. 1), nebo se nacházejí v přirozených otvorech, jako jsou průduchy a lenticely. Bakteriální buňky tvořící shluky bývají obaleny polymerní hmotou (extracelulárními polysacharidy) a představují vlastně velmi odlišné mikroniky od podmínek v okolí agregátů (biofilmu). Mají také větší šanci na přežití ve fyloplanu než samostatné buňky.

Od běžných epifytických bakterií se *E. coli* vyznačuje mnohem větší zranitelností v suchém prostředí. Při vystavení listů suchu přežilo pouze 1 % buněk *E. coli* a *Salmonella* spp., zatímco u druhu *Pseudomonas syringae*, který je běžnou součástí epifytické mikroflóry, přežilo 30 % buněk. Uvedené vlastnosti jsou důležité pro posouzení významu opatření určených ke snížení rizika výskytu patogenních střevních bakterií *E. coli* na rostlinných produktech na co nejnižší úrovni.

U rostlin určených k přímé konzumaci v čerstvém stavu lze během pěstování předejít kontaminaci jejich povrchu. Riziko je největší jednak na pozemcích, na nichž byla aplikována organická hnojiva ve zárodky patogenního kmene *E. coli*, a jednak v porostech, kde během vegetační sezony proběhl postřik pesticidy při použití znečištěné vody. Pokud je povrch rostlin osídlen patogenní *E. coli*, nelze bakterie snadno odstranit pouhým omytím. V takových případech se infekci z ovoce nebo zeleniny vyhneme pouze jejich zpracováním vařením. Odlišení virulentních kmenů *E. coli* (vyznačujících se tvorbou Shiga toxinů, které mají nejen spojitost s průjmy, ale i poškozením ledvin, viz tab. 1) od neviru-

2 Zakrnělost a listová skvrnitost rostlin fazolu po umělé infekci klinickými kmeny *Pseudomonas aeruginosa* (vpravo) v porovnání s neinokulovanou rostlinou (vlevo).

3 Listová skvrnitost po umělé infekci kmeny *P. aeruginosa* izolovanými z klinického materiálu od hospitalizovaných pacientů

4 Na příčném řezu cibulí jsou příznaky hnědnutí a hněloby vnitřních suknic po umělé infekci klinickými kmeny *P. aeruginosa* (nahore) v porovnání s neinokulovanou cibulí (dole). Snímky M. Nováka, není-li uvedeno jinak

lentních se provádí ve specializovaných mikrobiologických laboratořích.

### Shrnutí

Střevní bakterie na rostlinách představují relativně nový celosvětový zdravotnický a ekonomický problém. Teprve před nedávnem lékařská, veterinární a rostlinolékařská (fytopatologická) mikrobiologie akceptovala, že některé bakterie – zejména *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Pantoea agglomerans*, *Serratia marcescens* aj. – mohou vyvolat onemocnění u člověka, zvířat i rostlin. Nejznámějším příkladem tzv. ambilaterální patogenity je *P. aeruginosa* podílející se u člověka na cystické fibróze, zánětech močových cest, mozkových blan, středního ucha a hnisání kůže po popáleninách. Příznaky poškození rostlin touto bakterií jsou patrné z obr. 2–4. Muselo se upustit od tradičního paradigmatu, že patogeny člověka jsou vymezeny svou ekologickou nikou.

Další posun oproti původním předpokladům se týká specifčnosti patogenů. Od začátku 90. let 20. stol. narůstá četnost infekcí spojených s konzumací čerstvé zeleniny a ovoce, což svědčí, že rostliny mohou hrát důležitější roli jako druhotné prostředí pro střevní patogeny, než se dříve myslelo. Dokladem jsou epidemie gastroenteritidy (současného zánětu žaludku a tenkého střeva) způsobované bakterií *Salmonella enteritidis*, jakož i postižení, jejichž původcem jsou zmíněné kmeny *E. coli* O157:H7 a O104:H4. Tyto případy vyvolávají zvýšené obavy veřejnosti o bezpečnost potravin rostlinného původu. Hledají se odpovědi na otázky, jako např. jaká je způsobilost střevních patogenů přežít na rostlinách, jaké jsou možnosti účinněji minimalizovat ohrožení člověka nálezem a jak omezit riziko rozvratu trhu s čerstvou zeleninou.

**Tab. 1** Přehled průjmových kmenů bakterie *Escherichia coli*. Zkratky označují název typu a druhu (EP – enteropatogenní *E. coli*, EH – enterohemoragická apod.).

Kmeny <i>E. coli</i>		Onemocnění
Zkratka	Typ	
EPEC	enteropatogenní	vodnaté průjmy novorozenců, zvracení a horečky
EHEC	enterohemoragický	prudký krvácivý průjem hemolyticko-uremický syndrom (HUS, poškození ledvin)
ETEC	enterotoxigenní	vodnaté průjmy dětí i dospělých (cestovatelské průjmy), horečky
EIEC	enteroinvazivní	horečnaté průjmy s křečemi v břiše, někdy krev a hleny ve stolici
EAEC	enteragregativní	akutní a dlouhodobé průjmy