

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

***Pythium oligandrum* v klinické praxi**

Autor práce: Adéla Krýzová

Vedoucí práce: Ing. Iveta Brožková, Ph.D.

Bakalářská práce

2014

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

***Pythium oligandrum* in the clinical practice**

Author: Adéla Krýzová

Supervisor: Ing. Iveta Brožková, Ph.D.

Bachelor thesis

2014

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Adéla Krýzová**
Osobní číslo: **C10409**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Pythium oligandrum v klinické praxi**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**


Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Vypracujte literární rešerši na dané téma.
Seznamte se s informacemi o plísni druhu *Pythium oligandrum*. Dále se zaměřte na využití plísně *Pythium oligandrum* k léčení mykóz.
Podrobně rozpracujte problematiku mykóz a jejich rizikových faktorů.

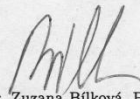
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:
Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Iveta Brožková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2012**
Termín odevzdání bakalářské práce: **19. července 2013**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.


doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2013

Prohlášení

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Adéla Krýzová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především vedoucí mé práce, Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D, za velkou trpělivost, vstřícnost a ochotu pomoci.

Anotace

Tato bakalářská práce se zabývá mykoparazitickým organismem *Pythium oligandrum* a jeho použitím v praxi. První část je zaměřena na obecnou charakteristiku mikromycety, další část na její využití v zemědělství, průmyslu a zejména klinické praxi. Poslední část je věnována mykózám a to především dermatomykózám a slizničním mykózám.

Klíčová slova: *Pythium oligandrum*, Biodeur, Polyversum, Bio Repel, mykózy, tinea, dermatomykózy, dermafytózy

Annotation

This thesis deals with the parasitic organism *Pythium oligandrum* and its use in practice. The first part is focused on general characterization of micromycetes, the next part is focused on its use in agriculture, industry and especially in the clinical practice. The last section is devoted to mycoses, especially dermatomycoses and mucosal mycoses.

Keywords: *Pythium oligandrum*, Biodeur, Polyversum, Bio Repel, mycoses, tinea, dermatomycosis, dermatofytosis

Seznam zkratek

AAA	α -aminoadipová kyselina
ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) zprostředkovaná protilátkami	cytotoxicita
<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Bc</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. albidus</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>C. kefyř</i>	<i>Candida kefyř</i>
<i>C. krusei</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
CMA (Corn meal agar)	kukuřičný agar
CWPF (The cell-wall protein fraction)	proteinové frakce buněčné stěny
DAP	α,ϵ -diaminopimelová kyselina
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
<i>F. culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
<i>F. solani</i>	<i>Fusarium solani</i>
GAM (Glucose asparagine agar)	glukózo-asparaginový agar
HRP	proteiny bohaté na hydroxyprolin
IL-1	Interleukin 1
IL-2	Interleukin 2
IL-4	Interleukin 4

IL-10	Interleukin 10
IL-12	Interleukin 12
INF- γ	Interferon γ
<i>M. audouini</i>	<i>Microsporium audouini</i>
<i>M. canis</i>	<i>Microsporium canis</i>
<i>M. fulvum</i>	<i>Microsporium fulvum</i>
<i>M. gallinae</i>	<i>Microsporium gallinae</i>
MEA (Malt Extract Agar)	agar se sladovým extraktem
NK buňky	natural killer cells - přirození zabíječi
PCA (Potato Carrot Agar)	bramborovo-mrkvový agar
PDA (Potato dextrose agar)	bramborovo-dextrózový agar
Po	<i>Pythium oligandrum</i>
<i>P. oligandrum</i>	<i>Pythium oligandrum</i>
<i>P. ovale</i>	<i>Pityrosporium ovale</i>
PAL	L-fenylalaninamoniumlyáza
<i>P. parasitica</i>	<i>Phytophthora parasitica</i>
POD-1 (Elicitin-like protein 1)	protein 1 podobný elicitinu
POD-2 (Elicitin-like protein 2)	protein 2 podobný elicitinu
POS-1 (Elicitin-like protein S1)	protein S1 podobný elicitinu
<i>R. solani</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
TNF	tumor nekrotizující faktor
<i>T. interdigitale</i>	<i>Trichophyton interdigitale</i>
<i>T. mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
<i>Ts. mucoides</i>	<i>Trichosporon mucoides</i>
<i>T. rubrum</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>T. terrestre</i>	<i>Trichophyton terrestre</i>

T. verrucosum

Trichophyton verrucosum

Obsah

1	Úvod	12
2	<i>Pythium oligandrum</i>	13
2.1	Taxonomické zařazení	13
2.2	Charakteristika <i>Pythium oligandrum</i>	13
2.3	Biochemické vlastnosti a odlišnosti od pravých hub	13
2.4	Historie objevu <i>Pythium oligandrum</i> a vývoje biopreparátů	15
2.5	Kultivace	15
2.6	Morfologie.....	17
2.7	Vývojový cyklus	18
2.7.1	Nepohlavní rozmnožování	19
2.7.2	Pohlavní rozmnožování	21
3	Mechanismy působení	23
3.1	Mykoparazitismus	23
3.2	Indukovaná rezistence	24
3.2.1	Oligandrin	24
3.2.2	Proteinové frakce buněčné stěny – the cell-wall protein fraction (CWPF)	25
3.3	Stimulace růstu.....	26
4	Použití <i>P. oligandrum</i> v průmyslu a zemědělství	27
4.1	<i>P. oligandrum</i> v průmyslu.....	27
4.1.1	Přípravek Bio Repel.....	27
4.1.2	Plísně rostoucí na zdivu a omítce	28
4.1.3	Testování účinnosti přípravku Bio Repel	28
4.2	<i>P. oligandrum</i> v zemědělství.....	30
4.2.1	Polyversum	30

4.2.2	Působení <i>P. oligandrum</i> na původce onemocnění rostlin.....	31
5	Použití <i>P. oligandrum</i> v klinické praxi.....	33
5.1	Použití <i>P. oligandrum</i> na dermatomykózy.....	33
5.1.1	Testování přípravku Biodeur	34
5.2	<i>P. oligandrum</i> a hnisající rány	35
5.3	Použití <i>P. oligandrum</i> ve veterinárním lékařství	36
6	Mykózy.....	38
6.1	Dermatomykózy	39
6.1.1	Dermatofytózy	40
6.1.1.1	Tinea pedis.....	40
6.1.1.2	Tinea unguinum.....	41
6.1.1.3	Tinea corporis	43
6.1.1.4	Tinea cruris	43
6.1.1.5	Tinea capitis.....	44
6.1.1.6	Tinea barbae	44
6.1.1.7	Tinea faciei	44
6.1.1.8	Tinea manus.....	44
6.1.2	Kvasinkové infekce kůže a nehtů	44
6.1.3	Ostatní kožní mykózy	45
6.1.3.1	Pityriasis versicolor	45
6.1.3.2	Pityrosporová folikulitida.....	46
6.2	Slizniční mykózy.....	46
6.2.1	Orální kandidóza.....	46
6.2.2	Balanitis candidosa	46
6.2.3	Vulvovaginální kandidóza	47
6.2.4	Mykotická infekce rohovky	47
6.2.5	Mykotická infekce oka.....	47

7	Závěr	48
8	Literatura	49
9	Seznam obrázků.....	59

1 Úvod

Tato bakalářská je zaměřena na mykoparazitickou plíseň *Pythium oligandrum* a na její využití v klinické praxi. Dále je vypracován přehled mykóz a to především dermatomykóz, kde se *Pythium oligandrum* nejčastěji využívá.

Dermatomykózy neohrožují pacienty přímo na životě, ale dokážou ho velmi znepříjemnit. Incidence dermatomykóz dnes narůstá velkou rychlostí, a tak je nasnadě nacházet další možnosti jejich léčení. Jedna z možností jak proti dermatomykózám bojovat je použít preparáty obsahující *Pythium oligandrum*. Přípravky s touto mikromycetou jsou ekologické, k tělu šetrné a ani na ně nemůže vzniknout rezistence, jako je tomu u běžných antimykotik, díky striktnímu mykoparazitismu *P. oligandrum*.

2 *Pythium oligandrum*

2.1 Taxonomické zařazení

Říše: *Straminipila (Chromista)*

Kmen: *Heterokonta*

Podkmen: *Peronosporomycotina*

Třída: *Peronosporomycetes (Oomycetes)*

Podtřída: *Peronosporomycetidae*

Řád: *Pythiales*

Čeleď: *Pythiaceae*

Rod: *Pythium*

Druh: *Pythium oligandrum*

(Dick, 2000; European commission, 2008).

2.2 Charakteristika *Pythium oligandrum*

Pythium oligandrum je houbový, mikroskopický, eukaryotní organismus (Klaban, 2011.). Jedná se o nepatogenní půdní organismus, který kolonizuje kořenový systém mnoha druhů plodin. V 1 g půdy můžeme nalézt 4 – 20 životaschopných zárodků (Mencl, 2001). Zatímco většina členů rodu *Pythium* jsou rostlinné patogeny, *Pythium oligandrum* je mykoparazit. Parazituje na patogenních plísňích, především na druzích napadající klíčící semena a semenáčky, a má schopnost tak před nimi rostliny chránit (Benhamou et al., 2012). Mykoparazitárních schopností se využívá jak v biologické ochraně rostlin, v průmyslu, tak v posledních letech i v lékařství k léčbě mykóz. Na českém trhu *P. oligandrum* nejčastěji nalezneme pod názvem „chytrá houba“.

V současnosti *P. oligandrum* zařazujeme do samostatné říše *Straminipila*, do třídy *Peronosporomycetes*, neboli *Oomycetes* (Dick, 2000).

2.3 Biochemické vlastnosti a odlišnosti od pravých hub

Dříve byly oomycety řazeny do říše hub (Fungi), ale jelikož mají specifické vlastnosti, které vlastnostem hub neodpovídají, vznikla nová říše s označením


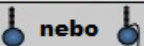


Straminipila, kam byly tyto organismy přesunuty. Dnes o oomycetách mluvíme jako o "houbám podobných" organismech (Dick, 2000). Některé z odlišností jsou shrnuty pod kapitolou v obrázku č. 1.

Buněčná stěna oomycety *P. oligandrum* neobsahuje žádný, anebo téměř žádný chitin. Stěna je tvořena z celulózy (β -1,4-glukan) a z dalších β -glukanů, např. z mycolaminarinu (β -1,3- a β -1,6-glukan) (Deacon, 2006a; Fincher et al., 2009). V buněčné stěně se také vyskytují proteiny bohaté na hydroxyprolin, tzv. HRP (Dick, 2000). Jako zásobní látka slouží pytiu polysacharidy, houbám glykogen a tuky (Deacon, 2006a).

Lyzin *Pythium* syntetizuje stejně jako rostliny cestou přes DAP (α,ϵ -diaminopimelovou kyselinu), pravé houby fylogeneticky mladší AAA dráhou. DAP dráha je spojena s řadou mitochondriálních typů, u oomycet to jsou tubulární kristy (Dick, 2000).

Pro pohlavní rozmnožování je významná přítomnost sterolů. Ty mají vliv na meiózu, na směrový růst gametangiálních os nebo např. pro lokální změkčení stěny v místě kontaktu mezi gametangii. Většina oomycet je závislá na vnějších zdrojích fytoosterolů, existují však důkazy, že rod *Pythium* je na vnějších zdrojích sterolů závislý částečně (Dick, 2000).

Obrázek č. 1 - Odlišnosti oomycet a pravých hub
(<http://lsb380.plbio.lsu.edu/mycology/Fungus%20slimemold%20oom.jpg>)

	Houby	Chromista	Myxomycety
Bičíky		 nebo 	
Meióza/ploidie	zygotická/n nebo sporická/n a 2n	gametická/2n	gametická/2n
Mitochondrie	ploché kristy	tubulární kristy	tubulární kristy
Stěny	β -1,3 a 1,6 glukany + chitin, polysacharidová matrix	β -glukan hydroxyprolin a celulóza	β -laktóza
Syntéza lysinu	AAA	DAP	DAP
Citlivost k fungicidům	Nejsou citlivé na metalaxyl	Nejsou citlivé na metalaxyl	---

2.4 Historie objevu *Pythium oligandrum* a vývoje biopreparátů

Pythium oligandrum bylo poprvé popsáno v roce 1930 americkým vědcem Charlesem Drechslerem. Organismus byl nejprve považován za sekundární patogen hrachu, poněvadž ho Drechsler izoloval z kořenů hrachu setého (*Pisum sativum*) s dalšími, již známými fytopatogeny rodu *Pythium*. Až později, v roce 1943, Drechsler zjistil, že *P. oligandrum*, které do té doby mylně pokládal za fytopatogen, napadá další druhy hub z čeledi *Pythiaceae* a jedná se tedy o mykoparazita (Whipps et al., 1989; Al-Rawahi et al., 1992; Mencl, 2001).

V roce 1965 izoloval houbu český vědec doc. ing. Dáša Veselý, DrSc., zjistil, že *P. oligandrum* je obligátní mykoparazit využívající ke svému metabolismu buňky jiných hub. Toto zjištění vedlo D. Veselého k myšlence využití houbového organismu v zemědělství k biologické ochraně rostlin. Veselému se podařilo po letech výzkumu v laboratoři získat zárodky houby, urychlit její množení a poté i zavést průmyslové velkoobjemové získávání zárodků, které umožnilo využití predačních schopností této houby v přípravku Polyversum (Mencl, 2001). Polyversum vyrábí společnost Biopreparáty, spol. s r. o., která vznikla v roce 1997 (Polyversum®, [cit. 2014c-04-17]).

Roku 2006 byla založena firma Bio Agens Research and Development – BARD, s.r.o. Společnost začala s výzkumem a výrobou mikrobiálních přípravků s fungicidním účinkem, které mají využití jak v oblasti humánní, tak i veterinární a navázala tak na výzkumný program firmy Biopreparáty spol. s r. o. zabývající se aplikací organismu *P. oligandrum* na ochranu rostlin v zemědělství (Bard, [cit. 2014b-04-27]).

V roce 1992 byla poprvé využita houba na léčbu kožních mykóz u člověka. Toxikologické studie provedené roku 1994 prokázaly, že *Pythium oligandrum* nemá žádné negativní účinky na lidský organismus, tj. že je zdravotně nezávadné. O dva roky později vznikl první kosmetický biopreparát určený na léčbu mykóz kůže nohou, snižování potivosti chodidel a odstraňování pachových symptomů (Mencl, 2001).

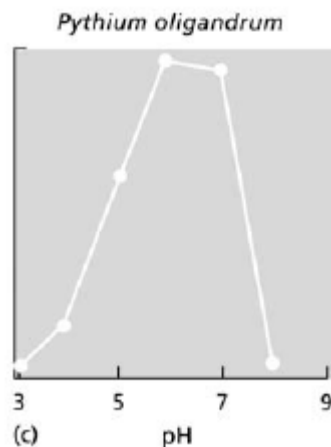
2.5 Kultivace

Pro rutinní laboratorní účely se pythium pěstuje na médiích s přírodními složkami, jako je např. bramboro-dextrózový agar (PDA), bramborovo-mrkvový agar

(PCA), agar se sladovým extraktem (MEA), kukuřičný (CMA) či vločkový agar. Na PCA roste pytium cca 63,5 mm za den, na glukózo-asparaginovém agaru (GAM) 47,6 mm za den. Kolonie na kukuřičném agaru jsou ponořené, na bramborovo-mrkvovém jsou bez zvláštního vzoru, nejoptimálnější teplota pro růst na PCA se pohybuje kolem 27°C, hlavní hyfy jsou pak až 7μm široké. Kultury vypěstované na kukuřičném agaru (cca 1 týden) jsou bohaté na oogonia, kolonie pak jsou nažloutlé a mají krustózní vzhled. Většina oogonií vzniká partenogeneticky, ale občas může být přítomno i antheridium v závislosti na použitém médiu a teplotě, např. zavlažovaný fazolový agar podporuje tvorbu antheridií (cca při teplotě 18°C) (Deacon, 2006f; Van Der Plaats-Niterink, 1981).

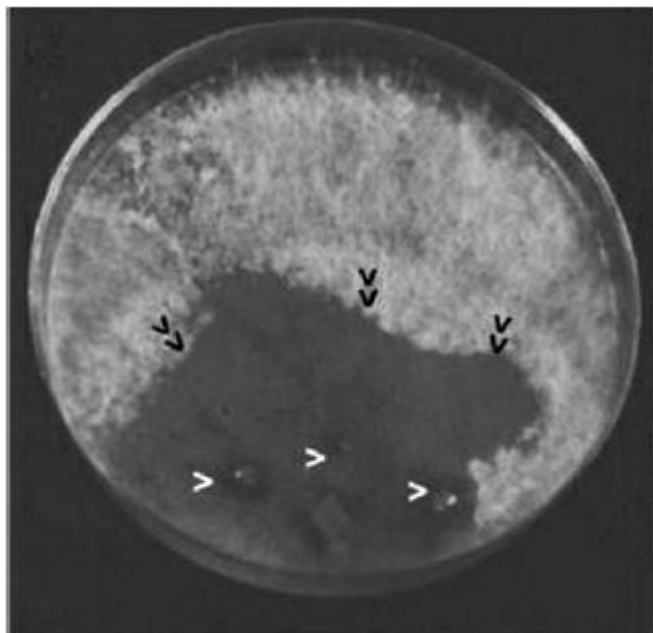
Pytium pro svůj růst potřebuje půdy s lehce kyselým pH (pH 6) (Deacon, 2006f), viz obrázek č. 2:

Obrázek č. 2 - Křivka závislosti růstu na pH (Deacon, 2006a)



Velmi častá je detekce a izolace pytia na tzv. předkolonizovaném agaru, viz obrázek č. 3. Na agarovou plotnu už dříve kolonizovanou houbou *Phialophora* se nanese tři kolonie půdy obsahující *P. oligandrum* (bílé šipky). Do 4 dnů pytium začne růst přes kolonii *Phialophora*. Dochází ke kolapsu hyf (černé špičky šipek), v mikroskopu je viděn výskyt trnitých oogonií (Deacon, 2006e).

Obrázek č. 3 - *P. oligandrum* na předkolonizovaném agaru (Deacon, 2006b)



Další možnost kultivace pytia je jeho pěstování na kultivačním mediu obohaceném o prekurzory auxinů (včetně tryptofanu a indol-3-acetaldehydu), kdy dochází k jejich metabolizaci přes tryptaminovou dráhu na tryptamin, látku podobnou auxinům. Tryptamin je dále v rostlinných živných roztocích absorbován do kořenového systému, což má za následek tvorbu sekundárních kořenů a v celkovém měřítku zvětšení kořenového objemu (Benhamou, 2012). Viz. také kapitola 3.3 Stimulace růstu.

2.6 Morfologie

Tělo organismu *P. oligandrum* (stélka) je tvořeno houbovým vláknem - hyfou. Hlavní hyfa je až 7 μ m široká. Soubor hyf tvoří mycelium. Mycelium *P. oligandrum* je coenocytické, tj. nepřehrádkované. *P. oligandrum* má také haustoria. Jedná se o přeměněná houbová vlákna, která prostupují tkáň hostitele a vysávají z něj živiny. Haustoria vznikají přeměnou houbových vláken. Špička haustoria má tvar háčku (Lodhi, 2005).

Jako vegetativní orgány slouží sporangia a jako pohlavní orgány - oogonia a antheridia. Sporangia tvoří složité komplexy skládající se z nepravidelných vláknitých, vejčitých až laločnatých jednotek, která jsou buď lineární, nebo rozvětvená. Tento druh sporangia se nevyskytuje u jiných známých druhů se zdobeným oogoniem. Laločnatá sporangia jsou velká 12x20 μ m, vláknitá

38-12 μm . Ve sporangiiích se tvoří dvoubíčíkaté zoospory, jejich velikost je 10-15 μm . Encystmentací tvoří *P. oligandrum* encystované zoospory, ty jsou velké až 10 μm .

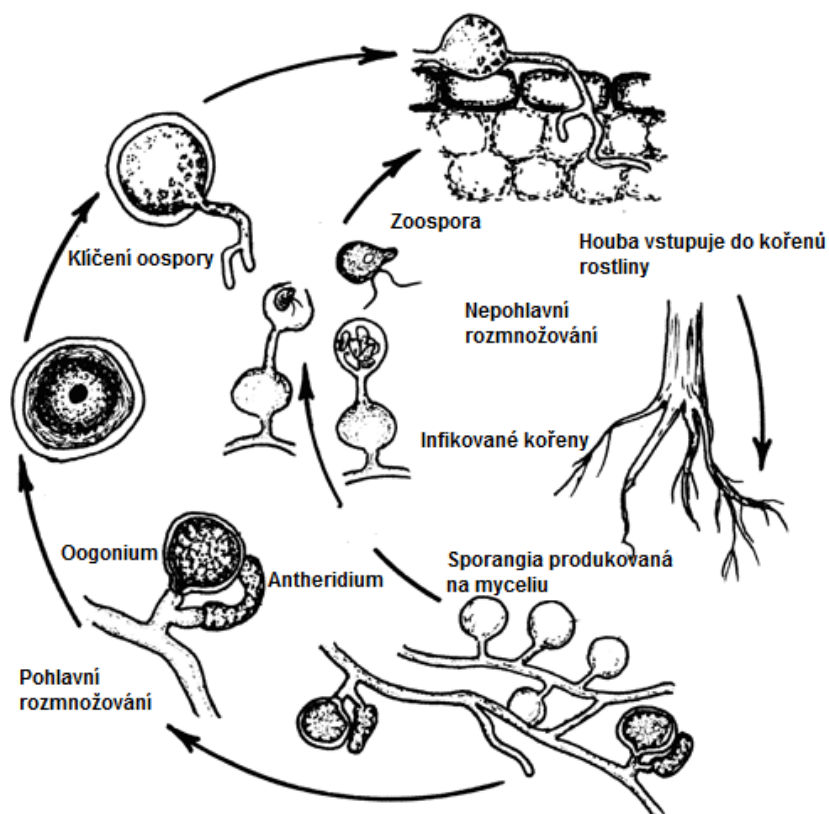
Oogonia jsou kulovitá, většinou interkalární, občas také terminální s ostnatými, úzkými výběžky, oogonia jsou velká 22-24 μm . Pohlavním rozmnožováním vzniknou oospory, ty jsou silnostěnné, hladké a aplerotické, tzn., že nevyplňují zcela oogonium. Mají v průměru 21-31 μm , jejich výběžky 5-7 μm , široké jsou 2-3 μm . Stěna oospory má tloušťku 1-2 μm . Ooplast má průměr 10 μm . Antheridium, pokud je přítomno, je kyjovité a podélně ulpívá na oogoniu (Van Der Plaats-Niterink, 1981; Lodhi, 2005).

2.7 Vývojový cyklus

P. oligandrum má zastoupeny oba 2 reprodukční cykly - nepohlavní (vegetativní) a pohlavní (generativní). Nepohlavní cyklus převažuje nad pohlavním - představuje přibližně 80 % reprodukce (Víchová, 2013). Celý vývojový cyklus je znázorněn na souhrnném obrázku - obrázek č. 4.

Obrázek č. 4 - Vývojový cyklus *P. oligandrum*

(http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/images/pythium_cycle.gif)



2.7.1 Nepohlavní rozmnožování

U nepohlavního rozmnožování hrají vedoucí roli sporangia se zoosporami.

Mnohoaderné sporangium (výtrusnice) se oddělí pomocí přehrádky od zbytku vegetativní stélky. (Van Der Plaats-Niterink, 1981). Hyfám nesoucím sporangia říkáme sporangiofory. Sporangia, ve kterých se formují zoospory se nazývají zoosporangia. Sporangia jsou charakteristická pro každý rod, jsou tedy využívány jako diferenciativní znak (Dick, 2000).

Při vyšších teplotách nebo nižší vlhkosti celé sporangium klíčí hyfou - coenocytické mycelium - funguje tedy jako monosporické sporangium, nazýváme to také jako přímé klíčení (Víchová, 2013). Při nižších teplotách - 18-20 °C se tvoří zoospory (Van Der Plaats-Niterink, 1981).

Sporangia neuvolňují zoospory "přímo", tedy tak, že by došlo k porušení špičky sporangia, místo toho vytváří sporangium krátký výstupek. Jeho špička je rozložena a vzniká na membránu vázaný váček (vezikul). Obsah sporangia je vytlačen do tohoto váčku, kde dochází k diferenciaci zoospor. Váček poté praskne a zoospory se uvolní do okolí (Deacon, 2006c). Sporangium s vezikulem, ve kterém jsou diferencované zoospory, je zobrazen na obrázku č. 5.

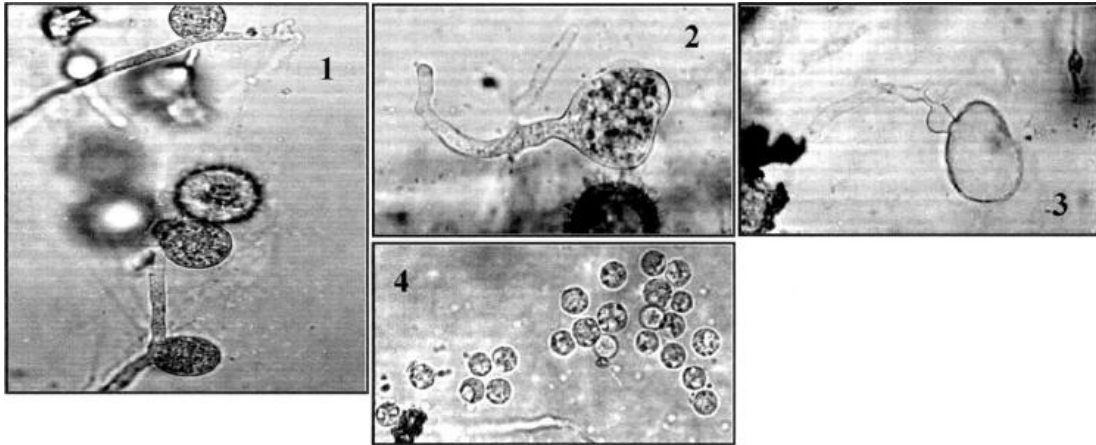
Obrázek č. 5 - Sporangium s vezikulem (Deacon, 2006b)



Uvolněné zoospory brzy encystují a jsou schopné zůstat v klidu před založením nového reprodukčního cyklu. Po období klidu encystované zoospory klíčí za vzniku mycelia. Encystované zoospory jsou velké přibližně 10 μm (Lodhi, 2005).

Na obrázku č. 6 jsou snímky z mikroskopu - na 1. a 2. snímku je mladé zoosporangium, na 3. prázdné zoosporangium (cca 20 μm) a na 4. jsou encystované zoospory (cca 10 μm).

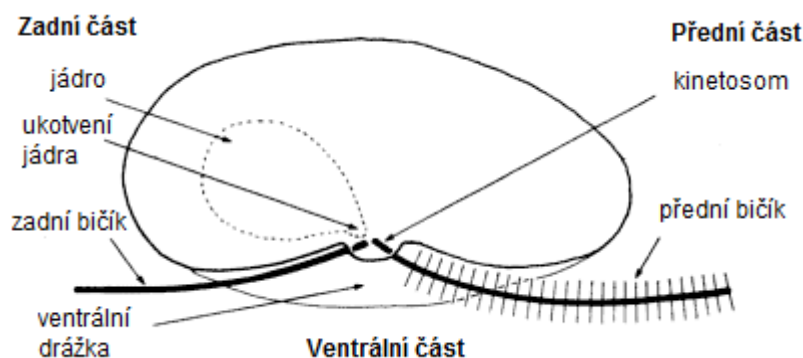
Obrázek č. 6 - Zoosporangia a zoospory (Abdelzaher et al., 2004)



Zoospory jsou diploidní, obsahují celý genom. V případě *P. oligandrum*, jsou zoospory důležitou životní fází, protože mají schopnost se pohybovat přes vodu prostřednictvím svých bičíků ke své potravě. Jsou-li vhodné podmínky, zoospory podstoupí mitotické dělení a zrají (Van Der Plaats-Niterink, 1981). *P. oligandrum* má heterokontní - dvoubičíkaté, sekundární, ledvinovité zoospory (Deacon, 2006c). Bičíky má uloženy laterálně a ve ventrální drážce, viz obr. č. 4. Dozadu směřující bičík je dlouhý a hladký. Bičík v přední části je kratší a podél celé své délky má trojdílné vlásky, tzv. mastigonemy. Bičík vyrůstá z kinetozomu, bazálního tělíska. V blízkosti ventrální drážky se nachází jádro, které se rozprostírá jako zobák směrem k místu, kde jsou ukotveny bičíky. V této oblasti také nalezneme vodu-vypuzovací vakuolu - organelu, která se podílí na osmotické regulaci. (Dick, 2000).

Zoospory také obsahují mnoho mitochondrií a příčně pruhované vakuoly - vakuoly vypadající jako "otisky prstů". Tyto vakuoly obsahují glukany, které slouží pravděpodobně jako sacharidové zásoby. Těsně pod povrchem buňky se nacházejí také tři typy periferních váček - velké periferní vezikuly, malé hřbetní vezikuly a malé břišní vezikuly. Zoospora je obklopena buněčnou membránou, pod kterou je řada deskových membrán - periferní cisterny. Funkce všech těchto periferních struktur jsou důležité pro tvorbu encystovaných zoospor. (Deacon, 2006b). Typická zoospora je znázorněna na obrázku č. 7:

Obrázek č. 7 - Zoospora (Dick, 2000)



Zoospory mohou plavat po mnoho hodin rychlostí 150 μm (nebo i více) za vteřinu, v prostoru často mění směr, naráží na překážky nebo se spontánně otáčejí. Zoospory se pohybují v tzv. bičíkovém rytmu ve tvaru sinusoidy. Hydrodynamické studie naznačují, že zadní bičík slouží především jako kormidlo, zatímco přední bičík přispívá až 90 % k rychlosti plavání a to díky mastigonemám, která fungují jako vesla. Regulace pohybu je silně ovlivněna vápníkem - např. odstraní-li se externí vápník chelatačním činidlem (EDTA), zoospory se budou pohybovat výhradně v rovné linii (Dick, 2000; Deacon, 2006b).

Pythium také tvoří chlamydozospory, jedná se o tlustostěnné a bezbičíkaté, klidové spory, které jsou určeny k přežití v nepříznivých podmínkách. Vznikají zaškrcením stěn hyf a jejím následným zesílením (Horner, 2012; Deacon, 2006b).

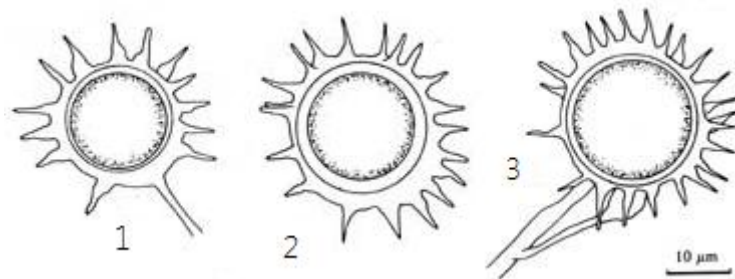
2.7.2 Pohlavní rozmnožování

P. oligandrum se liší od mnoha ostatních druhů oomycet tím, že zygoty - oospory dokáže tvořit i partenogenezí, tj. bez pohlavního procesu, kdy se nevytváří samčí gametangium, ale dochází k samooplození uvnitř samičího gametangia (Deacon, 2006d).

Nicméně *P. oligandrum* také dokáže - i když v menším množství - tvořit samčí gametangia, mluvíme o nich jako o antheridiích. Samičí gametangium se nazývá oogonium, je kulovité a obsahuje jedno či více oosfér, což je část protoplastu, ze kterého se později vyvine oospora (Deacon, 2006c). Oogonium je trnité - má dlouhé, úzké výběžky. Oogonium obsahuje ooplast - vakuolu se zásobními látkami, u rodu *Pythium* se ooplast pod světelným mikroskopem jeví jako homogenní (Dick, 2001). Antheridia většinou chybí, ale někdy jsou jedno i dvě

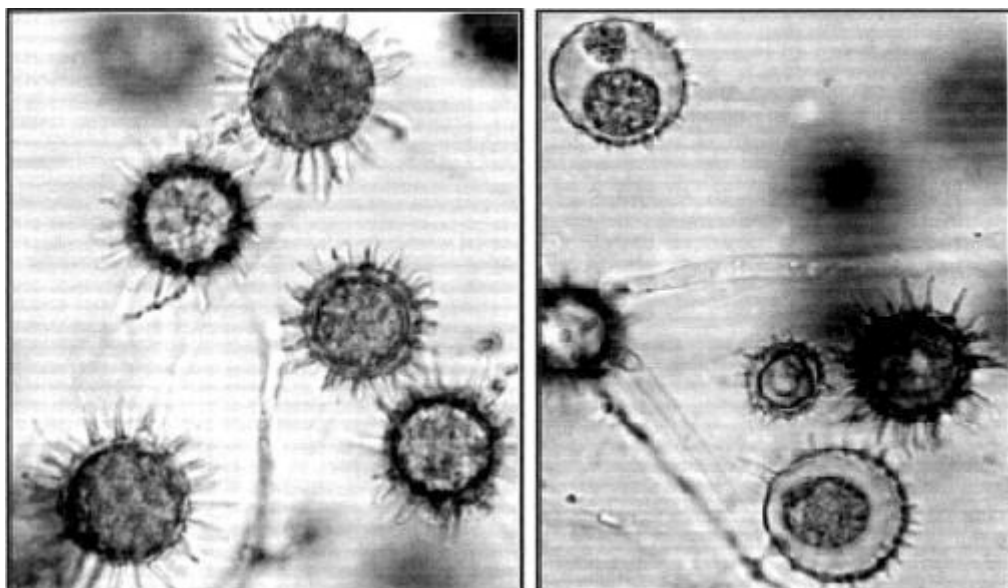
na oogoniu (Van Der Plaats-Niterink, 1981). Na obrázku č. 8 jsou vidět různé typy oogonií *P. oligandrum*, na kresbě č. 3 lze vidět oogonium s antheridiem.

Obrázek č. 8 - Oogonia a antheridium (Van Der Plaats-Niterink, 1981)



Mezi antheridiem a oogoniem vzniká fertilizační trubice, přes kterou přechází haploidní jádra z antheridia, dochází k oplodnění. Oplodnění vede ke vzniku jedné nebo více diploidních oospor (zygot). Oospory obvykle přechází do tzv. konstitutivní dormance předtím, než vyklíčí do diploidní hyfy nebo sporangia, které uvolňuje diploidní zoospory. Konstitutivní dormance znamená, že spora je v klidovém režimu, kdy ji vlastní fyziologické bariéry brání vyklíčit. Během této fáze se vnitřní vrstvy silné stěny oospory štěpí a stěna se tak stává tenčí. Tento proces může být urychlen udržováním spor v živinami chudých podmínkách, za normálních teplot a vlhkosti. Poté, po několika týdnech, spóry vyklíčí v reakci na živiny a další environmentální spouštěče - *P. oligandrum* klíčí při odpovědi na běžné živiny (cukry a aminokyseliny) nebo těkavé metabolity (např. acetaldehyd) uvolněné při klíčení semen. (Deacon, 2006b). Oospory (velké cca 24μm) lze vidět na obrázku č. 9.

Obrázek č. 9 - Oospory s výběžky (Abdelzaher et al., 2004)



3 Mechanismy působení

Jednotlivé mechanismy se vzájemně podporují a prolínají. Patří mezi ně mykoparazitismus, indukovaná rezistence rostlin proti patogenu a stimulace růstu rostlin.

3.1 Mykoparazitismus

P. oligandrum je mykoparazit, tzn., že přímo napadá fytopatogenní houbové organismy (ale i kvasinky). Pomocí hyf obtáčí pytium mycelium svého hostitele, viz obrázek č. 10. Poté tvoří hydrolytické enzymy, pomocí nichž lépe proniká do buněk hostitele, rozkládá jeho mycelia a některé rozmnožovací orgány (sklerocia). Získané živiny využívá pro svůj růst (Procházková-Rulfová, 2009). Na podkladě výživové a prostorové konkurence vytlačuje z daného místa patogenní houby. Po destrukci parazitické houby mikrolokalitu opustí (Klaban, 2011).

Obrázek č. 10 - Hyfa obtáčí mycelium hostitele

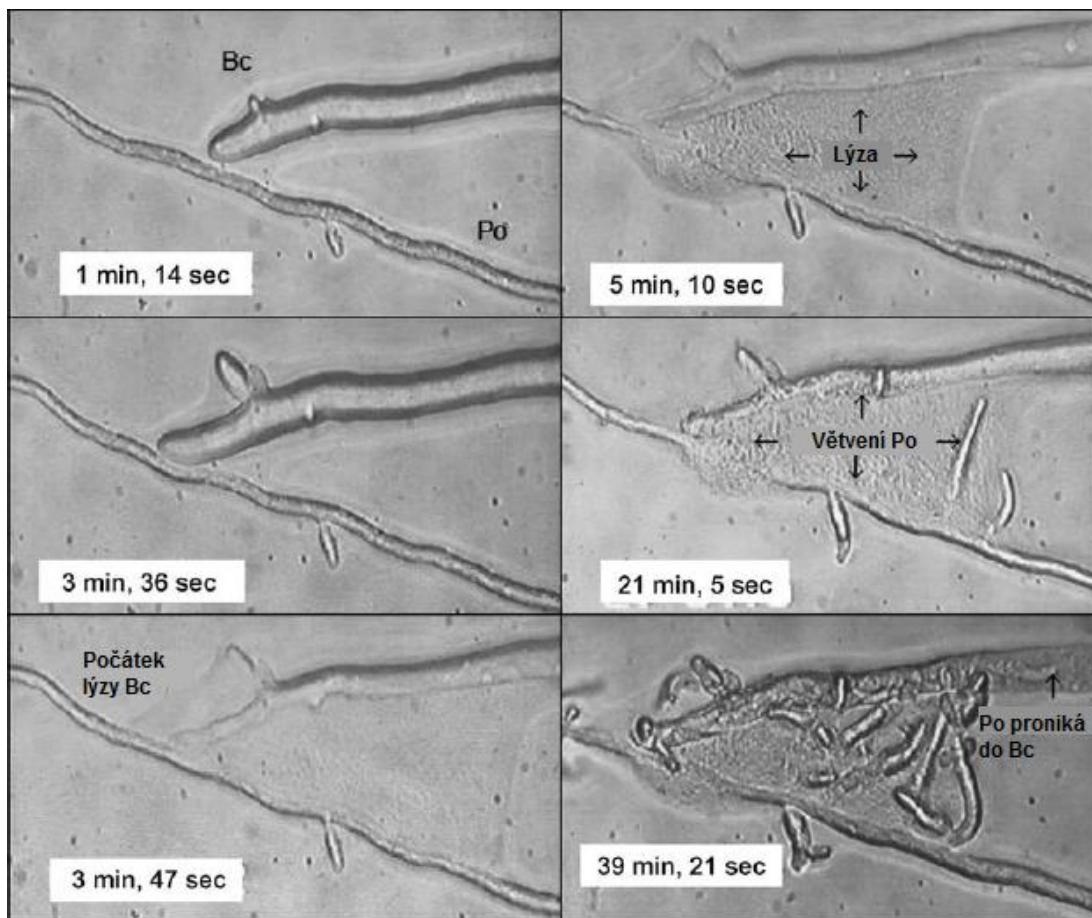
(Bard, [cit. 2014-05-16].)



Studie mykoparazitismu je znázorněna na obrázku č. 11. Jedná se o detailní záznam z videomikroskopie. Hyfální typ rostlinného patogenu - plíseň šedá (*Botrytis cinerea*) kontaktuje hyfy *P. oligandrum*, během tří minut dochází k lýze a vylití obsahu hyfy patogenu. *P. oligandrum* poté v lyzátu větví své hyfy a masivně proniká do hyfy plísně.

Obrázek č. 11 - Studie mykoparazitismu - *P. oligandrum* (Po) a *Botrytis cinerea* (Bc)

(Deacon, 2006c)



3.2 Indukovaná rezistence

Indukovaná rezistence je druh odolnosti rostlin proti patogenu. Rezistence funguje na biochemické úrovni, není dána geneticky, ale je navozena vlivem vnějších podmínek. *P. oligandrum* produkuje řadu elicitorů, které vytváří během kolonizace rhizosféry rostliny. Látky následně inhibují růst a vývoj patogenů tím, že aktivují obranný systém rostliny - stimulují mechanismus tvorby morfologických a biochemických bariér v rostlinných pletivech (Polyversum®, [cit. 2014b-04-27]; Trillas et al., 2009). Mezi elicitory patří komplex oligandrin a tzv. proteinové frakce buněčné stěny (CWPF):

3.2.1 Oligandrin

Oligandrin je extracelulární protein vylučovaný houbou podobný elicitinu s nízkou molekulovou hmotností 10 kDa a přibližně 100 aminokyselinami. Analýza sekvence oligandrinu ukázala, že aminokyseliny serin a threonin jsou zastoupeny

v množství 30 %, oproti tomu aminokyseliny tryptofan, histidin a arginin zcela chybí (Picard, 2000). Oligandrin se s izoelektrickým bodem 4,5 řadí mezi kyselé α -elicitiny (Lascombe et al., 2000). Tento elicitor vykazuje podobnosti s elicitory dalších zástupců rodu *Pythium* a také rodu *Phytophthora*, na rozdíl od nich však nevyvolává hypersenzitivní nekrózu, což je dáno rozdílným pořadím aminokyselin v sekvenci (Trillas et al., 2009). V napadené rostlině indukuje tvorbu fytohormonů - kyseliny salicylové, jasmonové a ethylenu, které se následně podílejí na rezistenci rostliny proti chorobám (Wang et al., 2011).

Výrazného poklesu incidence onemocnění bylo pozorováno u rostlin napadených např. plísní tabákovou (*Phytophthora parasitica*), které byly ošetřeny pomocí *P. oligandrum*. Ošetřené rostliny reagují omezením růstu patogenů na nejvzdálenějších tkáních - ucpáním mezibuněčných prostor a přírůstkem buněčné stěny v místě možného vstupu patogenu (Picard et al., 2000).

Mimo rezistentního charakteru má komplex protizánětlivý efekt a pravděpodobně je zodpovědný za to, že při aplikaci dochází k zmírnění či zmiizení ekzémů, projevů lupénky nebo toho, že se v ráně přestane tvořit hnis (Mencl, 2001).

3.2.2 Proteinové frakce buněčné stěny - the cell-wall protein fraction (CWPF)

Mezi proteiny buněčné stěny patří tři elicitory, POD-1, POD-2 a POS-1. Tyto proteiny indukují odolnost např. proti kořenomorce bramborové (*Rhizoctonia solani*) u cukrové řepy aktivací L-fenylalaninamoniumlyázy (PAL), chitinázy a fenylpropanoidů (Masunaka et al., 2010; Trillas et al., 2009).

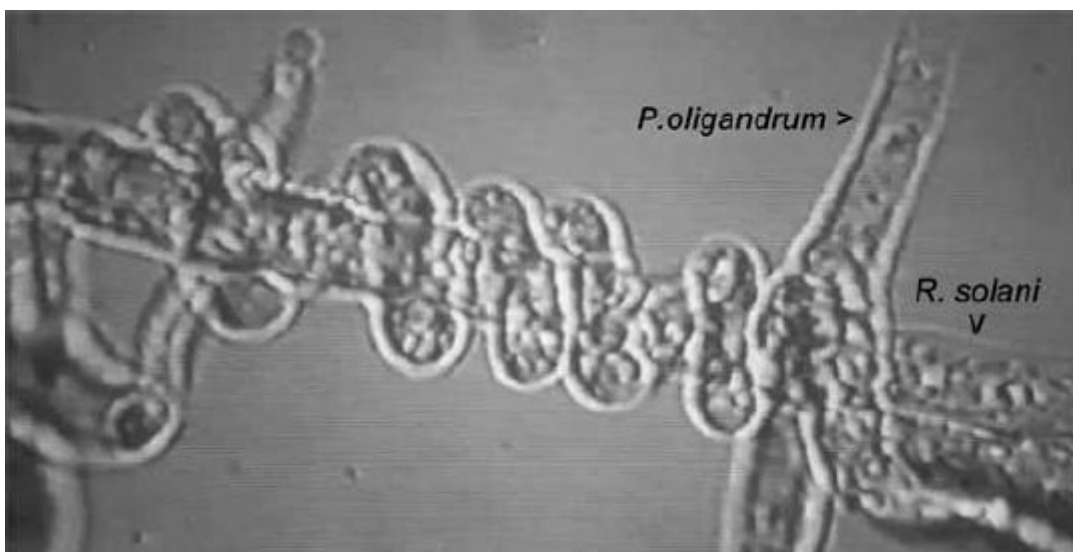
Enzymy chitinázy se podílejí na hydrolýze chitinu - to je strukturální složka buněčné stěny mnoha patogenních hub. Chitinázy mají tedy výrazné antimykotické vlastnosti (Zamir et al., 1993).

Fenylpropanoidy jsou fenolové látky odvozené od fenylalaninu a tyrosinu. Patří mezi ně kumariny, flavonoidy, fytoalexiny a strukturní komponenty typu ligninu a suberinu. V rostlinách jsou syntetizovány jako odpověď na stres. Tyto látky celkově posilují obranyschopnost rostliny proti infekci - mají antioxidační a antimikrobiální funkce a také se podílejí na mechanické odolnosti rostlin. V rostlině jsou syntetizovány z trans-skořicové kyseliny - ta vzniká biosyntézou z L-

fenylalaninu za přítomnosti enzymu L-fenylalaninamoniumlyázy (Adámková et al., 2006; Věchet 2012).

Interakce mezi *P. oligandrum* a *R. solani* lze vidět na obrázku č. 12. Fotografie je pořízená z video sekvence. *P. oligandrum* (v pravém horním rohu) kontaktuje hyfy *Rhizoctonia solani*. Hyfy pytia se během 5 minut rozrostla a větví se v místě kontaktu s hyfami *R. solani*, dochází ke stáčení hyf pytia kolem kořenomorky. Po 49 minutách od prvního kontaktu pytium proniká do hyf hostitele a způsobuje srážení jeho cytoplasmy.

Obrázek č. 12 - Interakce mezi *P. oligandrum* a *R. solani* (Deacon, 2006c)



3.3 Stimulace růstu

Aplikace chytré houby ovlivňuje zvýšení výnosů u plodin. Dochází ke stimulaci rostliny pomocí látky tryptamin. Ta je prekurzorem indol-3-octové kyseliny - fytohormonu řídícího růst a tropismus rostlin. Na zvýšenou koncentraci tohoto fytohormonu reagují rostliny růstem vegetativních i generativních částí. Efekt tryptaminu je dále podporován mykoparazitismem a indukcí rezistence (Le Floch, 2003; Polyversum®, [cit. 2014b-04-27]).

4 Použití *P. oligandrum* v průmyslu a zemědělství

Jak bylo výše popsáno, *P. oligandrum* je parazit, který se živí jinými plísněmi a houbami. Jeho schopnosti mykoparazitismu bylo člověkem poprvé využito v zemědělství. V posledních letech se "chytrá houba" využívá také v průmyslu a v domácnostech.

4.1 *P. oligandrum* v průmyslu

V tomto odvětví se *P. oligandrum* používá na likvidaci nežádoucích plísní na zdivu či omítce. *Pytium* se aplikuje formou spor ve speciálním přípravku. Po tom, co "chytrá houba" vyčerpá z hostitele všechny živiny a plíseň tím zahubí, vytvoří spory ve zdi/omítce a čeká na nové napadení plísní. V omítce se spory dokážou udržet až 3 roky, poté samovolně vymizí (Bio Repel, [cit. 2014d-06-29]).

Při likvidaci plísní je důležité dbát na to, aby při aplikaci přípravku nedošlo k rekontaminaci okolí jejich spórami. Tudíž je doporučována likvidace tzv. mokrou cestou, kdy se na viditelný nárůst mycelia plísně aplikuje postřikovačem roztok s protiplišňovým účinkem (Paříková, [cit. 2014-06-29]). A jako při použití jakéhokoli chemického fungicidního přípravku je nutné u přípravku s organismem *P. oligandrum* do budoucna eliminovat příčinu vzniku plísní jako je vysoká vlhkost vzduchu u nevětraných objektů, vlhké zdi např. po záplavách nebo ve starších či špatně izolovaných domech apod.

4.1.1 Přípravek Bio Repel

P. oligandrum se na ošetření zdí obytných místností používá ve formě českého přípravku Bio Repel, který je na českém trhu registrován od roku 2002. Bio Repel kromě "chytré houby" obsahuje také silice a proso seté (*Panicum miliaceum*), jedná se tedy o zcela přírodní, biocidní přípravek. Bio Repel se aplikuje postřikem na plísní napadenou zeď (Bio Repel, [cit. 2014-06-29]).

Až dva měsíce před aplikací Bio Repelu se nesmí používat žádné fungicidní přípravky, ty by totiž působili i na *P. oligandrum* obsažené v Bio Repelu. To samé platí i po aplikaci "chytré houby". Bio Repel působí dlouhodobě fungicidně, čímž na sebe přebírá fungistatickou úlohu. U plísní na *P. oligandrum* nevzniká rezistence (jelikož se jedná o mykoparazitismus) a Bio Repel tak působí i v případě odolných a rezistentních druhů plísní, u kterých ve většině případů nefungují (a nebo fungují

po krátkou dobu) chemické fungicidy jako je Savo, Fungisan apod. (Bio Repel, [cit. 2014e-06-29].. Bio Repel).

Bio Repel obsahuje dva sáčky - sáček A a sáček B. Nejprve se sáček A rozpustí ve vlažné vodě, poté se naředí určitým objemem vody, a pak se vzniklým roztokem umyje napadená plocha. Tímto se zničí spóry plísní. Po lehkém zaschnutí napadené zdi se sáček B rozpustí ve vlažné vodě, naředí a aplikuje se postřikem. Tato část vytvoří ochrannou bariéru a napadne nežádoucí plísně i uvnitř zdi. Bio Repel se může použít i jako prevence proti vzniku plísní, v tom případě se použije sáček B, který aktivujeme ve vlažné vodě a poté ho přimícháme do malířské barvy (Bio Repel, [cit. 2014a-06-29]).

4.1.2 Plísně rostoucí na zdivu a omítce

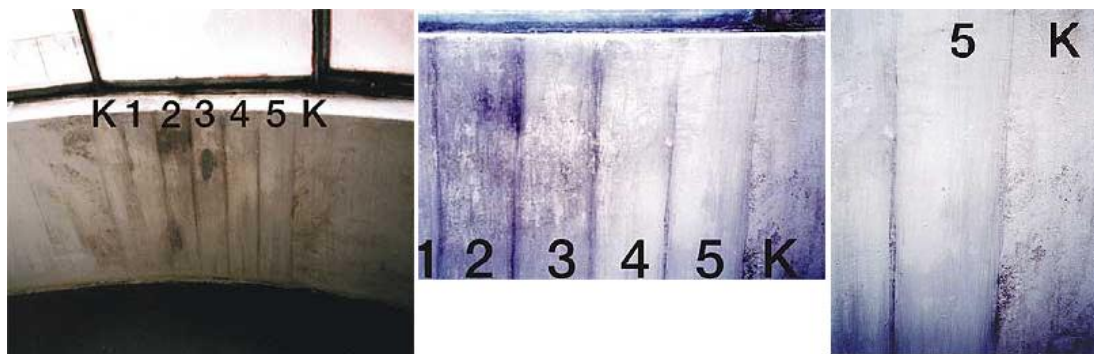
V období od jara do podzimu je obecně množství spór plísní v domácnostech menší. V tomto období se nejvíce vyskytují např. druhy: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus*. V zimním období je množství spór větší a nejvíce jsou zastoupeny druhy: *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*. Ve chvíli, kdy nastanou příhodné podmínky, jako je zvýšená vlhkost zdiva, ale také i ovzduší, začnou plísně růst. Právě spóry těchto druhů patří k závažným alergenům (Bio Repel, [cit. 2014c-06-29]).

4.1.3 Testování účinnosti přípravku Bio Repel

1. zkouška se uskutečnila v době od května 2002 do konce února 2003 v nevytápěném zaskleném balkonu s květinami, kde se vyskytují masivní nárůsty plísní na zdech. Teplota vzduchu byla nejčastěji kolem 6 °C a relativní vlhkost vzduchu překračovala často i 75 %. Povrchová teplota vnitřních stěn se v mrazivých dnech přibližovala 0 °C. Zkouška byla provedena na vápennocementové omítce s běžným nátěrem a na smrkových palubkách. Byla ověřována účinnost přípravku Bio Repel a porovnávána s účinností běžně dostupných chemických přípravků. Postupovalo se tak, že na část stěny bylo vedle sebe vyznačeno 6 pruhů (1-5 + pruh K). K je kontrolní plocha. Pruh 1 byl ošetřen 2x dezinfekčním chemickým přípravkem X v koncentraci 4%, pruh 2 byl ošetřen 2x dezinfekčním chemickým přípravkem Y v koncentraci 5%. Pruh 3 byl ošetřen roztokem přípravku Bio Repel A, pruh 4 roztokem B a 5. pruh byl ošetřen dle návodu roztoky A i B (Bio Repel, [cit. 2014b-06-29]).

První viditelné nárůsty plísní na neošetřených plochách se začaly objevovat v průběhu listopadu a do konce února 2003 byl jejich nárůst masivní (Bio Repel, [cit. 2014b-06-29]). Ošetřené plochy jsou znázorněny na obrázku č. 13.

Obrázek č. 13 - 1. zkouška přípravku Bio Repel (Bio Repel, [cit. 2014a-06-29])



Pruh č. 1 s chemickým dezinfekčním přípravkem, který má deklarovanou dlouhodobou fungistatickou účinnost - objevilo se několik menších ohnisek plísně. Pruh č. 2 s chemickým přípravkem s předpokládanou fungistatickou účinností 2-3 měsíce - zde je patrné opětovné napadení. Pruh č. 3 se složkou Bio Repel A - opětovné napadení. Pruh č. 4 se složkou Bio Repel B - napadení není makroskopicky vidět. Pruh č. 5 s kompletním přípravkem Bio Repel - žádné napadení, lze vidět jasné ohraničení ošetřené plochy sousedící s plochou s výraznou kontaminací (Bio Repel, [cit. 2014b-06-29]).

Z provedené zkoušky lze konstatovat, že při správném použití má přípravek Bio Repel lepší výsledky a dlouhotrvající účinnost a to i ve ztížených podmínkách (Bio Repel, [cit. 2014b-06-29]).

Další zkouška byla uskutečněna na mokré zdi po havárii vodovodního řádu. Byla provedena jak makroskopická, tak kultivační kontrola. Byly udělány stěry před aplikací přípravku, kultivací se zjistila přítomnost mycelií plísní druhu *Fusarium sp.*, *Aspergillus*, *Penicilium*. Přípravek byl aplikován dle návodu - nejprve omytí zasažených ploch, a pak postřík složkou B. Po aplikaci byly opět provedeny stěry a kultivace plísní, na ošetřené zdi se žádné plísně nevyskytovaly (Bio Repel, [cit. 2014b-06-29]). Situaci před aplikací a po aplikaci lze vidět na obrázku č. 14.

Obrázek č. 14 - 2. zkouška přípravku Bio Repel (Bio Repel, [cit. 2014b-06-29])



4.2 *P. oligandrum* v zemědělství

V zemědělství na ochranu rostlin se *P. oligandrum* začalo používat po dlouholetém výzkumu D. Veselého, který po doktoru Drechslerovi znovu objevil mykoparazitické schopnosti této mikroskopické "houby".

V současnosti je vyzdvihována jeho ekologičnost a naprostá nezávadnost pro životní prostředí, nicméně negativem, který brání používání opravdu ve velkém je to, že oospory *P. oligandrum* klíčí pomalu a špatně, protože vykazují konstitutivní dormanci. Pouze 10-40 % oospor čerstvě sklizených z kultivačního media vyklíčí snadno. Tato hodnota klesá na 5 % nebo méně, pokud jsou oospory sušeny pro skladování, tato účinnost je značně neekonomická (Deacon, 2006e). V České republice je ovšem možné zažádat o národní dotaci na používání přípravku Polyversum. Rozsah podpory byl v roce 2012 do výše 70 % u zeleninových druhů, do výše 25 % u polních druhů plodin a 40 % u okrasných rostlin (Zákon č. 252/1997 Sb., [cit. 2014-06-30].).

4.2.1 Polyversum

V dnešní době se v zemědělské praxi *P. oligandrum* používá ve formě smáčitelného prášku v ekologickém přípravku Polyversum a Polyversum Biogarden. Přípravky vyrábí česká firma Biopreparáty, spol. s r. o. Oba mikrobiální biofungicidy obsahují oospory v počtu 1×10^6 /g. Přípravek se používá pro moření osiva, máčení kořenů před výsadbou, jako postřik, zálivka a to jak v normálním, tak i ekologickém zemědělství (Polyversum®, [cit. 2014a-06-30].).

Polyversum má mnohostranné využití, je registrován pro velký počet plodin jako jsou obilniny (pšenice, žito, ječmen, tritikále), olejnin (řepka, hořčice,

slunečnice, mák), ovoce (jahodník), brukvovitou zeleninu, rajčata, papriky, okurky, chmel, révu vinnou, travníky a lesní a okrasné školky (Polyversum®, [cit. 2014d-06-30]).

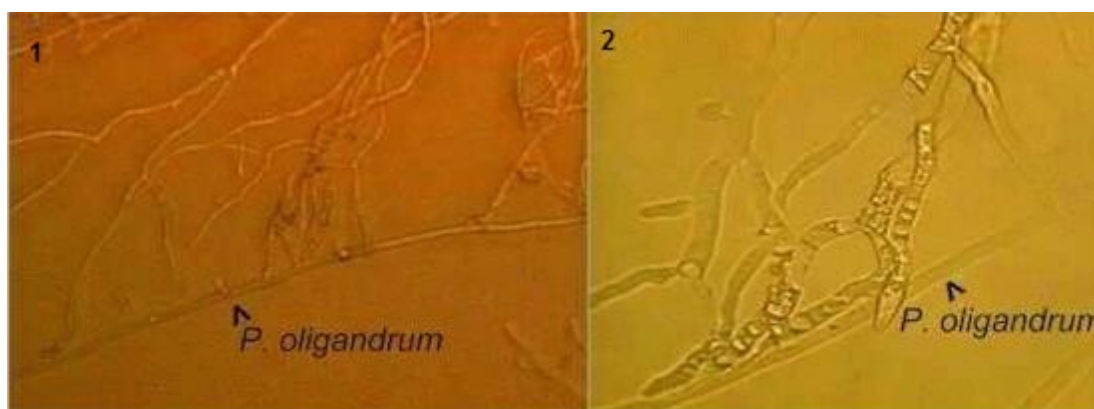
4.2.2 Působení *P. oligandrum* na původce onemocnění rostlin

U rostlin se setkáme s mykoparazitismem, indukovanou rezistencí a s podporou růstu. Jak už bylo popsáno výše, *P. oligandrum* pomocí hyf obmotá hostitele a poté ho enzymaticky rozkládá a vysává z něj živiny. Toto přímě napadení jiné houby nazýváme mykoparazitismus. Indukovaná rezistence je patogenem indukovaná obrana, je důležitá pro prevenci chorob a také pro rekonvalescenci. Komplex oligandrin a proteinové frakce buněčné stěny aktivují obranný systém rostlin a tím inhibují růst patogenů. *P. oligandrum* též stimuluje růst rostlin pomocí látky tryptamin, prekurzoru fytohormonu (indol-3-octové kyseliny) řídícího růst rostlin.

Na obrázku č. 15 lze vidět pozoruhodný vliv pouze jedné hyfy *P. oligandrum* na hyfy *F. culmorum* na agarové plotně. *F. culmorum* se zastaví při kontaktu s mykoparazitem (snímek 1). Při zvětšení (snímek 2) můžeme vidět porušené hyfy patogenu - obsah hyf je silně vakuolizován a koagulován.

Obrázek č. 15 - Interakce mezi *P. oligandrum* a *Fusarium culmorum*

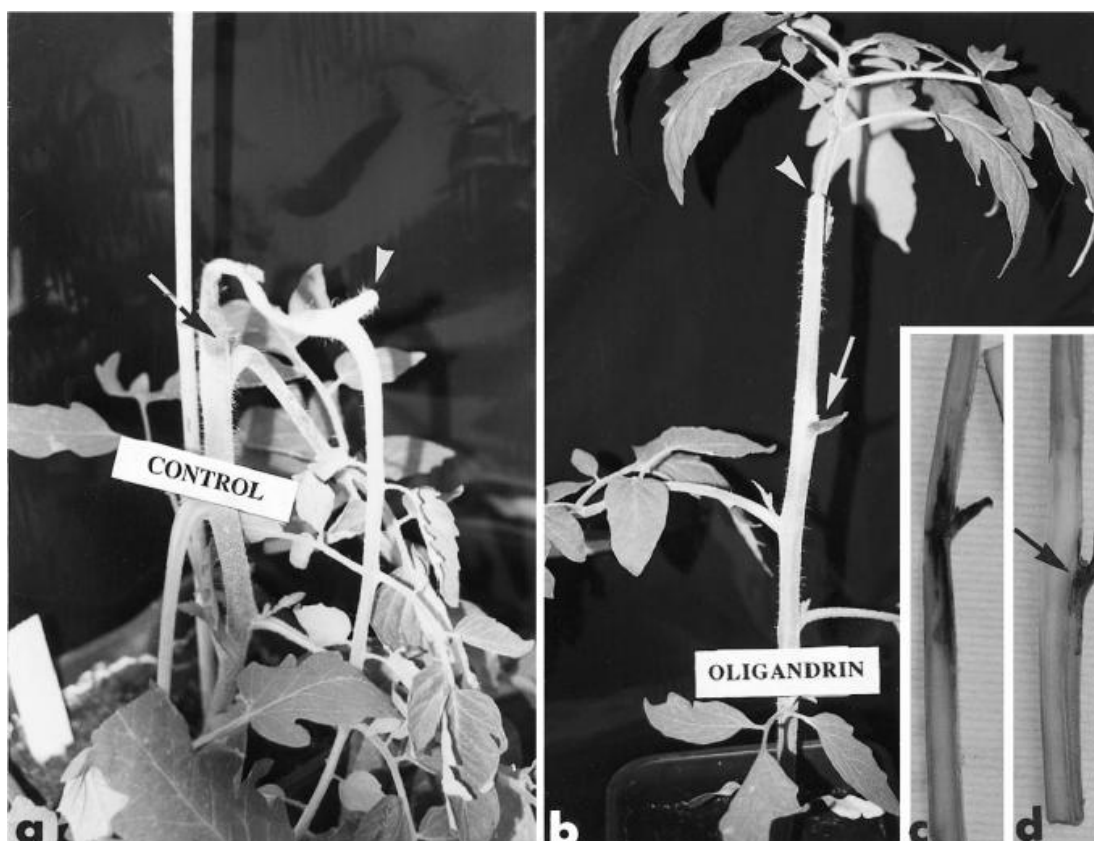
(Deacon, J., [cit. 2014-06-20].)



Na obrázku č. 16 je znázorněn efekt ošetření rajčete infikovaného *Phytophthora parasitica* oligandrinem. Oligandrin byl aplikován na uťatý vrcholek (snímek B, šipka) a inokulace plísni byly provedeny na části listu řapíku (šipky). Na snímku A, tedy tam, kde nebyl aplikován oligandrin, rostlina vykazuje po sedmi dnech po aplikaci závažné příznaky vadnutí. Při léčbě oligandrinem je rajče bez

příznaků, s výjimkou oblasti naočkování plísně *P. parasitica*. Na snímcích Ca D je vidět efekt léčby oligandrinem na stonku rajčete, jedná se o seříznutou vnější vrstvu stonku. Rozsah léze vyvolané *P. parasitica* je mnohem menší při léčbě oligandrinem (D), než v neošetřené rostlině (C).

Obrázek č. 16 - Efekt léčby rostliny napadené *Phytophthora parasitica* oligandrinem (Picard et al., 2000)



5 Použití *P. oligandrum* v klinické praxi

V 90. letech minulého století se poprvé využilo schopnosti mykoparazitismu *P. oligandrum* v lékařství a to na léčení kožních mykóz. Stejně jako při použití na plísněmi napadené rostliny, či na ošetření napadených zdí, tak také v lékařství se využívá parazitismu pytia, kdy houba proniká svými vlákny do buněk parazita a čerpá z něj látky pro svoji výživu. Mykoparazitismus a produkce enzymů je podstatou účinnosti preparátů s chytrou houbou. (Menc1, 2001). Po vyčerpání parazitické plísně *P. oligandrum* mizí z této lokality (uhyne hladu). *P. oligandrum* je totiž striktní mykoparazit, tudíž lidské tělo pro něj není přirozené prostředí a v žádném případě jej nepoškozuje a nenapadá. Na základě výživové a prostorové konkurence takto vytlačuje z prostoru kožní, patogenní houby a uvolňuje tak místo pro znovu osídlení normální mikroflórou (Načeradská, 2010). Oslabením parazitické plísně může organismus uplatnit své vlastní imunitní mechanismy, přirozeným olupováním keratinu z kůže pak dochází k odstranění zbytků infekce (Menc1, 2001).

Dobrou účinnost má použití pytia i na vaginální a ústní mykózu a na nemoci, které nejsou způsobené houbami, jako je psoriáza (lupénka), atopický exém, bércové vředy na nohou diabetiků, afty, projevy paradentózy a jiných zánětů v dutině ústní (Menc1 et al., 2005). *P. oligandrum* se také používá ve veterinárním lékařství (Načeradská et al., 2011).

Mykózy obecně jsou zpracované v samostatné - 6. kapitole.

5.1 Použití *P. oligandrum* na dermatomykózy

Hlavní využití má pytium v léčbě dermatomykóz, především u dermatofytóz tinea pedis, tinea interdigitalis a onychomykóz. Pozitivních účinků se dále využívá na eliminaci pachových symptomů nohou a hyperhydróze (nadměrnému pocení) (Menc1, 2002). Chytrá houba se používá v podobě biopreparátu Biodeur, jedná se o prášek s oosporami *P. oligandrum*. Biodeur se využívá ve formě suspenze ke koupelím (Hendrychová et al., 2011).

Mikromyceta *P. oligandrum* parazituje na jiných mikroskopických houbách způsobující mykózy jako jsou např. *Trichophyton rubrum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* aj. (Menc1, 2001).

5.1.1 Testování přípravku Biodeur

Přípravek byl testován na vzorku 69 lidí s mykózou dolních končetin. Nejmladšímu pacientovi bylo 19, nejstaršímu 77. U každého pacienta bylo provedeno kultivační vyšetření. U 39 pacientů (56,5 %) byla mykóza diagnostikována pouze mikroskopicky (Mencl, 2002). Laboratorní nálezy jsou znázorněny na obrázku č. 17:

Obrázek č. 17 - Laboratorní nálezy
(Mencl, 2001)

Typ mykologického nálezu - identifikovaný patogen	Počet nálezů		% z pozitivní kultivace (n=30)
	n = 69	%	
Pouze mikroskopicky	39	56.5	-----
<i>Trichophyton rubrum</i>	12	17.4	40.0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	6	8.7	20.0
<i>Trichophyton spp.</i>	1	1.4	3.3
<i>Microsporum gypseum</i>	2	2.9	6.7
<i>Candida albicans</i>	1	1.4	3.3
<i>Candida parapsilosis</i>	2	2.9	6.7
<i>Candida spp.</i>	1	1.4	3.3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	1.4	3.3
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	2	2.9	6.7
Fibrilární houby (nepatří mezi dermatofyty)	2	2.9	6.7

V případě pozitivních kultivací byly nejvíce zastoupeny nálezy dermatofytů (n = 21). Převažujícím dermatofytem byl *Trichophyton rubrum* (n = 12), což představovalo 40 % všech pozitivních kultivací. Druhým nejčastějším dermatofytem patogenem byl *Trichophyton mentagrophytes* s 20 % všech pozitivních kultivací (Mencl, 2002). Celkem 42 pacientů trpělo pachovými symptomy, 43 hyperhydrózou, 58 dermatomykózou (tinea pedis a tinea interdigitalis) a 59 onychomykózou (Mencl, 2001), viz obrázek č. 18.

Obrázek č. 18 - Výsledky použití preparátu Biodeur (Mencl, 2001)

Typ postižení	Počet pacientů	Stav za 1 měsíc po 3 aplikacích					
		Odstranění nemoci		Zlepšení stavu		Nezlepšení stavu	
		n	%	n	%	n	%
Pachové symptomy	42	33	78,6	8	19,0	1	2,4
Hyperhydróza	43	29	67,4	12	27,9	2	4,7
Dermatomykóza	58	48	82,8	10	17,2	0	0
Onychomykóza	59	9	15,3	43	72,9	16	27,1

Sledovaní pacienti si aplikovali přípravek na postižená místa. Jednalo se buďto o koupele nohou, a nebo obklad. V případě koupelí se v roztoku s preparátem Biodeur omývaly nohy 30 minut a to dva dny po sobě. Tato procedura se opakovala za 7 dní a ještě jednou za dalších 7 dní. V případě onychomykózy byla koupel kombinována se zábalem, který měli pacienti přes noc. Po 1 měsíci po poslední aplikaci, byly výsledky testů preparátu vyhodnoceny (Mencl, 2001).

Z výsledků (viz obr. č. 16) vyplynulo, že Biodeur dokázal odstranit pachové symptomy v 78,6 % případů, zlepšení stavu nastalo v 19 % případech. Přípravek odstranil hyperhydrózu v 67,4 % a u 27,9 % případů zlepšil její stav. U dermatomykózy (tinea pedis a tinea interdigitalis) se celkově zlepšil stav u všech postižených, dermatomykóza vymizela u 82,8% pacientů. V případě onychomykózy je hodnocení bohužel velmi těžké, protože na testování je potřeba delší doba než 30 dní. Ale u 72,9 % pacientů bylo pozorováno určité zlepšení. Jako pozitivní výsledek se hodnotilo zmenšení hyperkeratických hmot pod nehtovou ploténkou, částečné odrůstání nehtu nového, zdravého, změna barvy postižené nehtové ploténky a úleva od bolesti (Mencl, 2001).

5.2 *P. oligandrum* a hnisající rány

V letech 2011-2013 byla provedena v Pardubické krajské nemocnici klinická studie zabývající se účinky chytré houby na zlepšení stavu hnisajících, mikrobiálně kontaminovaných a nehojících se ran. Hodnotily se také účinky houby na tvorbu

biofilmu. Ten produkují patogenní mikroorganismy, biofilm je důležitý virulentní nástroj bakterií a kvasinek (Mencl et al., 2014).

Studie se zúčastnilo 45 pacientů (11 mužů a 34 žen) s hnisajícími ranami na lýtkách, bérkách a nártách. Zárodky *P. oligandrum* ve sterilním fyziologickém roztoku se nanášely na rány, které byl následně překryty obvazem. Obklady byly měněny po 8 hodinách, celková aplikace trvala u každého pacienta 96 hodin. (Mencl et al., 2014).

Výrazného zlepšení (minimalizace mikrobiálního osídlení a zlepšení klinického stavu) nastalo u 64,4 % aplikací (29 pacientů). U 14 osob (31,1 %) došlo jen k mírnému zlepšení mikrobiální zátěže či alespoň ke změně poměru zastoupených mikrobů. Klinický stav se ale těmto pacientům zlepšil, a tak mohli být dále léčeni běžnou, konvenční léčbou. U dvou pacientů (4,5 %) nedošlo k žádnému zlepšení (Mencl et al., 2014).

U všech pacientů byly odebrány kontrolní vzorky mikrobů a testovány na produkci biofilmu a ovlivnění produkce biofilmu přidáním zárodků *P. oligandrum*. Měření ukázala 70 % snížení tvorby biofilmu u kmenů, který biofilm tvoří. V 17 % případů nebylo zaznamenáno žádné snížení tvorby biofilmu a u 13 % byly výsledky měření různorodé. Produkci biofilmu se nejméně podařilo ovlivnit u kmenů *Stenotrophomonas maltophilia* a *Pseudomonas aeruginosa* (Mencl et al., 2014).

5.3 Použití *P. oligandrum* ve veterinárním lékařství

Úspěšně se *P. oligandrum* ve formě přípravku Ecosin používá také ve veterinárním lékařství. Důkaz přinesla léčba 2,5 měsíčního kotěte s dermatofytózou, kterému byla kultivací zjištěna přítomnost *Microsporum canis*. Kotě se nadměrně drbalo, na kůži mělo bílé šupinky a na ušním boltci mělo zarudlou kůži a alopecii (ztráta srsti). Kočka byla asi 15 minut ponořena do roztoku s přípravkem Ecosin. Tato koupel byla prováděna vždy po sedmi dnech a to celkem třikrát, třikrát se také přípravek aplikoval přímo na postižené místo. Již po týdnu byla kůže jen mírně zarudlá, téměř bez šupinek. Po dvou týdnech již nebyla pozorována žádná viditelná patologická změna kůže, srst na boltci zarůstala chlupy. Po třech týdnech po první koupeli byly odebrány vzorky a provedena kultivace, všechna vyšetření byla negativní (Načeradská et al., 2011).

Byly také provedeny studie u psů trpících atopickým exémem, plísňovým onemocněním kůže a u nehojících se ran, výsledky byly příznivé. Výborná účinnost byla také zaznamenána u koní trpících hnilobou kopyt, suchozemských želv při mykózách krunýře či u morčat s kvasinkovou infekcí (Bard, [cit. 2014a-07-15]).

6 Mykózy

Mykózy jsou spolu s mycetismy, mykotoxikózami a mykoalergózami zařazovány do skupiny mykotických onemocnění. U mykóz mikroskopické houby aktivně penetrují sliznice a tkáň jako praví parazité. Mykózy můžeme dělit podle etiologie (původce onemocnění) a topografie (místa působení infekce). Etiologicky se uplatňuje velká řada zástupců dvou základních morfologických forem mikromycet, tj. kvasinek a vláknitých hub. Topograficky mykózy rozdělujeme na povrchové a hluboké. Povrchové mykózy postihují kůži a viditelné sliznice, hluboké jsou orgánové, systémové, vzácně generalizované (Kod'ousek, 2003; Hamal et Svobodová, 2011; Mencl, 2001).

V praxi se lze obecně ve většině případů setkat s oportunními mikromycetami, tj. takovými, které primárně onemocnění nevyvolávají, onemocnění vzniknou až při oslabení imunitního systému hostitele. Roli v propuknutí infekce hrají rizikové faktory. Zabráněním vzniku a rozvoji rizikových faktorů se snižuje propuknutí mykóz, oproti tomu vyšší počet rizikových faktorů přispívá ke zvýšení možnosti propuknutí mykotického onemocnění (Jedličková, 2006; Mencl, 2001). Rizikové faktory se dělí na lokální a celkové.

Lokální faktory ovlivňují většinou jen povrch lidského těla a nanejvýš volně dostupné sliznice. Řadíme sem pohyb naboso po hotelových koberecích, rohožích společných koupelen, saun a bazénů, chůzi naboso ve volné přírodě, ale také nadváhu, nošení neprodyšné obuvi, promiskuitu a též nadměrné užívání chemie (intimní a abrazivní kosmetika, antiperspiranty, pěnové koupele aj.) (Jedličková, 2006; Mencl, 2001).

Do skupiny celkových rizikových faktorů řadíme velkou řadu okolností. Patří sem gravidita, dlouhodobá léčba kortikosteroidy, antibiotiky (kdy dochází ke změnám místní fyziologické bakteriální mikroflóry), chemoterapie a radioterapie, hemodialýza, cytomegalovirová infekce, pacienti s diabetes mellitus s ketoacidózou, pacienti oslabení virem HIV, popálení, či pacienti s otevřenými ranami a polytraumaty. Lidé s plicní fibrózou, cystickou fibrózou, se závažným imunodeficitem, s transplantací kostní dřeně, srdce, jater nebo plic. Dále sem také řadíme nadměrný stres, kouření, nadměrnou konzumaci alkoholu, užívání drog,

kontaminaci prostředí (stavební a rekonstrukční práce, kontaminovaná klimatizace) (Jedličková, 2006; Mencl, 2001).

Podle způsobu nákazy dělíme mykotické infekce na endogenní a exogenní. Infekce endogenní vznikají aktivací latentní, skryté infekce nebo přemnožením saprofytický žijící komenzální flóry u oslabeného hostitele. Tyto mikroby se poté dostanou většinou přes střevní stěnu do krevního řečiště a mohou napadat jednotlivé orgány. Tomuto stavu říkáme oportunní infekce. Exogenní infekce jsou infekce získané z vnějšího prostředí, kdy zdrojem je např. kůže a sliznice nemocných, vzduch v nemocničních pokojích, předměty a potrava kontaminované kvasinkami a plísněmi. K nákaze pak dochází inhalací, infekcí ran nebo popálenin, méně často pak infekce vznikají zdravotnickým zásahem (Haber et al., 1995; Jedličková, 2006).

Hluboké, systémové infekce jsou multiorgánové. Jsou velice závažné, přímo ohrožují život pacienta, komplikují léčebné postupy. Nejčastěji se vyskytují jako nozokomiální nákazy (Stuchlík, 2010). Pro vznik systémových mykóz musí mít pacient určitou predispozici. Predispozicí bývají hematoonkologická onemocnění (akutní leukemie), těžce imunosuprimovaní pacienti (např. pacienti s HIV), pacienti po rozsáhlých a opakovaných břišních operacích aj. Nejčastější systémové mykózy jsou kandidózy, aspergilózy, dále kryptokokózy a mukormykózy (Jedličková, 2006).

Napadený organismus se proti mykotické infekci brání různými mechanismy, od nespecifické rezistence (pohlaví, věk, hormonální vlivy apod.), přirozených bariér (kůže, sliznice, sekrety, řasinkový epitel) po specifickou obranu. Ta zahrnuje tvorbu zánětu, dále fagocytózu, T lymfocyty, NK buňky a protilátky s opsonizačními schopnostmi (Kod'ousek, 2003).

6.1 Dermatomykózy

Dermatomykózy, neboli kožní mykózy, jsou nejčastější mykotická onemocnění, řadíme je do povrchových mykóz. Mykotické onemocnění kůže a kožních derivátů (vlasy, vousy, chlupy a nehty) mohou být vyvolány dermatofyty (ze 45%), kvasinkami (ze 32%) nebo oportunními hyfomycetami (ze 23%). Primární onemocnění způsobují dermatofyta a *Cryptococcus neoformans*, ostatní plísně a kvasinky způsobují sekundární infekce u pacientů s oslabenou imunitou (Jedličková et al., 2008).

6.1.1 Dermatofytózy

Dermatofyta tvoří velkou skupinu patogenních a nepatogenních druhů. Z epidemiologického hlediska dělíme dermatofyta do skupin na geofilní, zoofilní a antropofilní druhy. Geofilní druhy kontaminují půdu, příležitostně napadající člověka či zvířata, řadíme sem *Microsporum gypseum*, *M. fulvum*, *Trichophyton ajelloi*, *T. terrestre*. Primárním hostitelem zoofilních druhů je zvíře, tyto druhy mohou také infikovat člověka, řadíme sem *Microsporum canis*, *M. gallinae*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. verrucosum* aj. Primárním hostitelem antropofilních druhů je člověk, mezi antropofilní druhy řadíme *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *M. audouini*, *Epidermophyton floccosum* (Vosmík et al., 1995).

Původně jsou dermatofyta půdními saprofyty, u kterých se vyvinula schopnost využít keratin v půdě. U některých dermatofyt se však vyvinula schopnost parazitismu na zvířatech a ztratila se schopnost přežít v půdě. Antropofilní druhy dermatofyt se vyvinuly ze zoofilních druhů, adaptovaly se na lidský keratin a ztratily schopnost metabolizovat keratin zvířecí. Existují však dermatofyty, které mají schopnost využít jak zvířecí, tak lidský keratin (*T. mentagrophytes*, *M. canis*). Pokud se člověk infikuje antropofilním dermatofytem, tak výsledná zánětlivá reakce je většinou slabá a nebo úplně chybí, oproti tomu nákaza zoofilním druhem vyvolá výraznou zánětlivou reakci kvůli velké tvorbě proteáz, tvorba je v tomto případě mnohem mohutnější nežli u zvířete. To svědčí o specializaci některých dermatofyt na určitý typ hostitele (Vosmík et al., 1995).

Jednotlivé formy dermatofytóz se dělí podle jejich lokalizace.

6.1.1.1 Tinea pedis

Jedná se o nejčastější dermatofytózu, během života postihne až 70 % dospělé populace. Častěji postihuje muže než ženy a to ve věku 20-40 let. Tato nakažlivá mykóza se vyskytuje v mezprstí nebo na ploskách nohou. Rizikovým faktorem pro vznik této mykózy je diabetes mellitus, dále uzavřená obuv a společné vlhké prostory jako jsou koupelny, rohožky, ručníky apod. Infekce nejčastěji začíná ve 4. nebo 5. mezprstí jako akutní zánět se zarudnutím a svěděním. Neléčená infekce přechází většinou do chronického stavu. Společní původci tinea pedis jsou *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* a *Epidermophyton*

floccosum, z postižených ložisek lze vykultivovat i *Candida albicans* a *Trichosporon mucoides* (Porsche, 2006b; Jedličková et al., 2008). Rozlišujeme tři základní formy tinea pedis – interdigitální, hyperkeratotickou a vezikulobulózní (Porsche, 2006b; Jedličková et al., 2008).

Interdigitální forma, neboli meziprstní forma, postihuje především osoby se zvýšenou potivostí nohou. Může být přítomen zápach, svědění, pálení či bolest. Klinicky se projevuje vznikem šupinek a popraskáním nebo mokráním, macerováním postižené kůže a zbledáním (Porsche, 2006b; Jedličková et al., 2008).

Hyperkeratotická forma je charakterizována zarudnutím a olupováním postižené kůže. Obvykle se vyskytuje na chodidlech, patách nebo na hranách nohy, tato forma má chronický průběh a postižený člověk většinou nemá žádné subjektivní potíže (Porsche, 2006b; Jedličková et al., 2008).

Vezikulobulózní forma je akutní, velmi svědivá forma, která se projevuje výsevem vezikulů na ploskách nohou. Často ji nelze rozeznat od ekzému či plantární psoriázy (Porsche, 2006b; Jedličková et al., 2008).

6.1.1.2 Tinea unguinum

Jedná se o mykotickou infekci nehtových plotének prstů nohou a rukou, říká se jí také onychomykóza. Onychomykóza je však širší pojem než tinea unguinum, protože vedle postižení dermatofyty, zahrnuje též infekci vyvolanou kvasinkami a oportunními hyfomycetami. Avšak většina onychomykóz je dermatofytického původu, navíc onychomykózy nedermatofytického původu nelze většinou klinicky rozlišit (Jedličková et al., 2008). Podle klinického obrazu rozlišujeme onychomykózy způsobené dermatofyty na distálně-laterální subunguální formu, superficiální bílou onychomykózu, proximální subunguální onychomykózu, onychomykózu typu endonyx a totální dystrofická onychomykóza. Onychomykózu také způsobují kvasinky a vláknité houby (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Distálně-laterální subunguální forma - jedná se o nejčastější formu onychomykózy způsobenou hlavně dermatofytem *Trichophyton rubrum*. Infekce začíná na distální části nehtu a poté pomalu postupuje po spodní straně nehtové ploténky k zadnímu nehtovému valu. Nehet se ztlušťuje a rohovatí, později třepí a ulamuje. Objevuje se bělavé, žluté i hnědé zbarvení postiženého nehtu. Tato forma

postihuje především palce u nohou (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Superficiální bílá onychomykóza je způsobená především dermatofytem *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale*, méně často pak oportunními plísněmi. Tvoří asi 10 % onychomykóz. Klinicky se jedná o postižení horního povrchu nehtových plotének palců, kdy ploténky zbledají a olupují se (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Proximální subunguální onychomykóza - nehtová ploténka je proximálně bílá a distálně přechází v normální zbarvení nehtu. Může postihovat i hlubší vrstvy ploténky. Postižený nehet ztrácí lesk a deformuje se. Tato forma se vyskytuje u lidí s poruchami imunity. Nejčastější původce této formy infekce je *Trichophyton rubrum* (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Onychomykóza typu endonyx je masivní postižení střední vrstvy nehtové ploténky, horní i spodní plocha nehtu jsou nepostižené. V našich poměrech je tato forma raritní, vyvolává ji *Trichophyton soudanense* (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Při totální dystrofická onychomykóze jsou nehty postižené v celém rozsahu, jsou ztluštělé, deformované, matné a žlutavě hnědé. Postupně dochází k destrukci celé nehtové ploténky. Tato forma vzniká buď sekundárně jako terminální stadium neléčených ostatních forem, nebo primárně při chronické mukokutánní kandidóze (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Onychomykóza způsobená kvasinkami postihuje nehty na ruku i na nohu. Většinou jsou nehtové ploténky postiženy sekundárně v proximální části nehtu v oblasti zadního nehtového valu, který je zarudnutý a může hnisat. Nehtová ploténka se může odloučit od nehtového lůžka. Rizikové faktory jsou časté máčení rukou a prostředí s vysokým obsahem sacharidů (pekárny, cukrárny). Kvasinkové infekce nehtů se dělí na 4 typy. 1. typ je chronická paronychia se sekundární dystrofií nehtů, která postihuje především nehty na ruku. 2. typ je distální nehtová infekce, 3. typ mukokutánní kandidóza a 4. sekundární kandidóza, která se vyskytuje v souvislosti s jiným onemocněním nehtů, např. s psoriázou (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

Onychomykózy způsobené oportunními mikromycetami se příliš neliší od onychomykóz způsobených dermatofyty. Často je provází zelenavé nebo černé zbarvení. Objevují se zejména u lidí s poruchami imunity nebo jako sekundární infekce u onychomykóz způsobených dermatofyty. Nejčastějšími původci jsou mikromycety *Fusarium*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Acremonium*, *Aspegillus* aj (Kuklíková, 2008; Skořepová, 2008; Kuklová, 2011).

6.1.1.3 Tinea corporis

U této formy dermatofytózy je postižena neochlupená část obličeje, trupu, horní končetiny od ramen k zápěstí a dolní končetiny od třísel ke hlezňům (Skořepová, 2008). Infekce může být vyvolána kterýmkoliv dermatofytem, nejčastěji však zoofilními dermatofyty (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Microsporum canis*). Nejčastější příčina vzniku infekce je tedy kontakt s infikovaným zvířetem, vzácněji pak s půdou. Např. *M. canis* pochází nejčastěji od koček, dále psů a hlodavců. Infekce vyvolaná antropofilními druhy (*Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*) vzniká často přenosem z jiné, infikované části těla. Ložiska infekce jsou obecně ostře ohraničená, zarudnutá, kruhovitá s aktivními okraji a centrálním hojením (Vosmík et al., 1995). Průběh infekce zoofilními druhy je závažnější, infekce je provázena velkou zánětlivou reakcí, ložiska infekce jsou drobnější, ale početná. Infekce antropofilními druhy má mírnější průběh, vyskytují se rozsáhlé mapovité léze, infekce často přechází do chronického stavu. Klinický obraz tinea corporis je rozmanitý, je určen druhem, který vyvolal mykózu a také stupněm zánětlivé reakce (Skořepová, 2008).

6.1.1.4 Tinea cruris

Tato dermatofytóza postihuje vnitřní plochu stehen, třísla, oblast hýždí a hráze. Původci tinea cruris jsou antropofilní dermatofyty *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* a *Epidermophyton floccosum*, které jsou také infekční agens pro tinea pedis. Onemocnění postihuje především muže, častěji v letních měsících, při zapaření. K nakažení dochází v prostředí veřejných sprch, šaten apod. a nebo přenosem infekce z jiného, infikovaného místa na těle, nejčastěji z nohou (Porsche, 2006a). Ložiska jsou svědicí, zarudnutá se zánětlivým okrajem často s vezikulami a šupinkami (Vosmík et al., 1995).

6.1.1.5 Tinea capitis

Jedná se o dermatofytickou infekci vlasaté části hlavy, obočí a řas. Vyskytuje se nejčastěji u dětí do puberty (Vosmík et al., 1995). Nejčastější původce je *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum canis* a *Trichophyton violaceum*. Nákaza se projevuje rozmanitě, vyskytují se ložiska bez zánětu, se zánětlivými hrbolky, ložiska šupinatá zarudlá. Většina ložisek je doprovázena ulámanými vlasy (Rebollo et al., 2008).

6.1.1.6 Tinea barbae

Tinea barbae je dermatofytóza mužů v oblasti obličeje a krku pokryté vousy. Nejčastějším vyvolavatelem bývá zoofilní *Trichophyton mentagropes*. Obvyklou příčinou nákazy je kontakt s nemocnými zvířaty. Infekce postihuje jednotlivé folikuly a šíří se holením, postupně vznikají zánětlivá ložiska s hnisem. Lymfatické uzliny v okolí bývají zduřelé, bolestivé a zanícené (Braun-Falco, 2000; Vosmík et al., 1995).

6.1.1.7 Tinea faciei

Jedná se o onemocnění vyvolané zejména *Trichophyton mentagropes* a *Trichophyton rubrum*, které postihuje kůži nevousaté části obličeje. Infekcí se člověk může nakazit od zvířete, či z jiné části těla (Vosmík et al., 1995). Běžným projevem jsou jasně ohraničená, kruhovitá, světle červená ložiska často se šupinami. Zoofilní dermatofyty však vyvolávají hlubokou hnisavou folikulitidu (zánět vlasového váčku) (Jedličková et al., 2008).

6.1.1.8 Tinea manus

Infekce postihující ruce. Infekce je většinou přenesena na ruce z dolních končetin. Nejobvyklejšími původci jsou *Trichophyton mentagropes* a *Trichophyton rubrum*, řidčeji *Epidermophyton floccosum*. Projevuje se hyperkeratózou dlaní či výskytem svědicích puchýřů na hranách dlaní a na prstech (Braun-Falco, 2000).

6.1.2 Kvasinkové infekce kůže a nehtů

Označení kvasinková infekce se používá pro infekce způsobené kvasinkami, kvasinky jsou houby, které se množí pučením. Jedná se nejčastěji o oportunní patogeny způsobující běžná kožní, slizniční nebo nehtová onemocnění. Mohou však

vyvolat i akutní či chronické hluboké mykózy (Vosmík et al., 1995). Původci kandidózy kůže a nehtů je nejčastěji kvasinka *Candida albicans*, dále *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*. Infekce vyvolaná kvasinkami rodu *Trichosporon* (na kůži především *T. mucoides*) se zpravidla považují za kontaminaci či sekundární kolonizaci. Tyto kvasinky jsou komenzálové sliznic trávicího a genitálního traktu. Rizikovým faktorem pro vznik kandidózy kůže je obezita, častá práce ve vodě nebo s detergenty, diabetes mellitus, léčba steroidy a antibiotiky (Vyas, 2012; Jedličková et al., 2008). Podle lokalizace infekce se povrchové kožní kandidózy rozlišují na candidosis intertriginosa, chronickou mukokutánní kandidózu, kandidové paronychium a kandidovou onychomykózu.

Candidosis intertriginosa je kandidóza vyskytující se v meziprstí rukou a v místech vlhké zapárky u starších žen nebo kojenců. Infekce se projevuje světlými vezikulami, které přecházejí na červená, mokvající ložiska ohraničená změkčenou rohovou vrstvou (Jedličková et al., 2008).

Chronická mukokutánní kandidóza - skupina onemocnění charakterizovaná postižením sliznic a kůže, řadí se mezi primární buněčné deficity. Kandidóza je způsobena selektivní neodpovídavostí T lymfocytů na kandidové antigeny (Bartůňková et al., 2007).

Původcem kandidového paronychiu a kandidové onychomykózy jsou *C. albicans* a *C. parapsilosis*. Postižení se projevuje dlouhodobým zduřením a zarudnutím v oblasti nehtového valu, ten je bolestivý a vytváří kapsovitý záhyb s hnisem (Pizinger, 2010).

6.1.3 Ostatní kožní mykózy

Do ostatních kožních mykóz řadíme pityriasis versicolor a pityrospоровou folikultitidu.

6.1.3.1 Pityriasis versicolor

Pityriasis versicolor je chronické, většinou nezápřetlivé onemocnění kůže způsobené lipofilními kvasinkami *Pityrosporum ovale*, *Pityrosporum orbiculare* a *Malassezia furfur*, které jsou součástí normální kožní mikroflóry člověka. Touto mykózou jsou postiženy většinou dospělé osoby a to na místech s největším výskytem mazových žláz (přední a zadní plocha hrudníku). Charakteristický je vznik

ostře ohraničených skvrnek růžové a hnědé barvy s loupajícími se šupinkami (Braun-Falco, 2000). V kožních šupinkách lze mikroskopicky prokázat blastosporu a krátké hyfy *P. ovale* (Vosmík, 1995).

6.1.3.2 Pityrosporová folikulitida

Jedná se o chronické postižení postihující převážně ženy ve středním věku. Původcem je *P. ovale*, jehož spory se nacházejí v postižených vlasových folikulech. Charakteristické jsou svědící, na folikuly vázané zánětlivé papuly (pupeny) a pustuly (dutinky). Zánětlivá ložiska najdeme na horní polovině trupu, na krku a horních končetinách (Jedličková et al., 2008).

6.2 Slizniční mykózy

Slizniční mykózy spolu s kožními řadíme do povrchových mykóz. Postiženy mohou být sliznice dutiny ústní, jícnu, oční rohovka, spojivka, genitál aj. Nejčastějším vyvolavatelem slizničních mykóz jsou kandidy (Jedličková, 2006).

6.2.1 Orální kandidóza

Toto onemocnění se vyskytuje jak v chronické, tak akutní formě. Má 5 typů. První je akutní pseudomembranózní forma (soor, moučnivka) objevující se hlavně v dětském věku s typickými bílými povlaky na bukalní sliznici, dásních, jazyku nebo na patře. Druhá forma se nazývá akutní atrofická. Tato forma je bolestivá, projevuje se zarudnutím a pálením ústní sliznice a jazyka. Třetí forma je chronická hyperplastická, kdy se na bukalní sliznici a jazyku tvoří tuhá, bílá ložiska s úzkým červeným lemem. Čtvrtá forma je chronická atrofická vyskytující se hlavně u osob používající zubní protézu nebo rovnátka. Projevuje se červenými, menšími ložisky v místech doteku protézy. Poslední forma je angulární cheilitida, ta nemusí být vždy kandidózního původu. Projevuje se zarudnutím a olupováním střední části rtů. (Vosmík et al., 1995; Jedličková et al., 2008). Moučnivkou může být také postižen jícen (ezofagitida jícnu) (Kod'ousek, 2003).

6.2.2 Balanitis candidosa

Infekce postihuje hlavně starší, obézní muže, diabetiky a muže v kontaktu s ženami s kandidovou vulvovaginitidou. Na žaludu penisu se tvoří puchýře nebo

svědící zarudlá ložiska s bělavými, mokvajícími povlaky (Pizinger, 2010; Vosmík et al., 1995).

6.2.3 Vulvovaginální kandidóza

K typickým příznakům této kandidózy postihující ženy patří svědění, otok a zarudnutí vaginy, dysurie (řezavá bolest při močení) a dyspareunie (bolestivé pocity při pohlavním styku) a vaginální, bílý, hustý výtok. K rizikovým faktorům patří těhotenství, diabetes mellitus, léčba kortikosteroidy, antibiotiky, hormonální antikoncepce, pohlavně přenosné choroby, HIV infekce aj. Postižená žena může být pouze nosička, nebo může trpět chronickou formou či jednorázovou kandidózou (Roztočil, 2011).

6.2.4 Mykotická infekce rohovky

Infekce rohovky spolu s infekcí oka a ucha se řadí mezi závažné infekce. Mykologickou příčinou infekce rohovky je nejčastěji *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*. Dalšími původci jsou rod plísní *Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*) a rod *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*, *F. solani*). Klinicky se keratitida projevuje bolestí, slzením, nerovnostmi povrchu, může dojít také je zkalení a u těžkých forem ke vzniku vředů. Mezi rizikové faktory patří dlouhodobé užívání kontaktních čoček, zranění oka, operace oka, imunosupresorované osoby a další (Jedličková et al., 2008).

6.2.5 Mykotická infekce oka

Nejrozšířenějšími původci jsou *Aspergillus sp.*, *Candida sp.* či *Fusarium sp.* Nejčastěji je jedná o difúzní nitrooční zánět, neboli endoftalmitidu. Infekční endoftalmitida je velmi devastující, zrak ohrožující onemocnění. Může být exogenního původu (infekce proniká ze zevního prostředí, např. při operaci oka) či endogenního původu, kdy se patogen dostává do oka krevní cestou (Říhová, 2007).

7 Závěr

Cílem této bakalářské práce je poskytnout informace o plísni *Pythium oligandrum*, zaměřit se na její použití při léčbě lokálních mykóz a přehledně vypracovat problematiku mykóz s jejich rizikovými faktory.

Pythium oligandrum je agresivní mykoparazit, který napadá patogenní plísně. Této schopnosti se začalo nejprve využívat v zemědělství na ochranu rostlin napadených plísněmi. V posledních letech se "chytrá houba" používá také na ošetření zdí a omítek a v lékařství k léčbě bércových vředů, lupénky, hnisajících ran, paradentózy a především k léčbě dermatomykóz.

Mikromycety, způsobující mykózy, jsou dnes závažnějším problémem, než kdy dříve. V dnešní době velkou rychlostí stoupá počet lidí s rizikovými, predispozičními faktory, jako jsou např. lidé s diabetes mellitus, nadváhou, imunosupresovaní lidé, lidé používající kortikosteroidy, chemoterapeutika, dále lidé nadměrně užívající chemii a také lidé nosící neprodyšnou obuv aj. Této stoupající tendenci odpovídá i stoupající počet lidí s mykotickým onemocněním kůže a jejích struktur.

Účinná cesta, jak vyléčit často chronické dermatomykózy, je použití mykoparazita *P. oligandrum* v biopreparátu Biodeur. Bylo zjištěno, že při správné aplikaci je tento organismus skutečně účinný, u onychomykóz má však léčba delšího trvání. Biopreparáty s *P. oligandrum* jsou ekologické, pro pacienty velmi šetrné, nelze se jimi předávkovat, ani nemají žádné vedlejší účinky a lze je aplikovat i v případech, kdy nelze použít systémová antimykotika.

8 Literatura

1. ADÁMKOVÁ, Šárka - LUHOVÁ, Lenka - PETŘIVALSKÝ, Marek - PEČ, Pavel. *Role l-fenylalaninamoniumlyasy při obranné reakci rostlin*. Chem. Listy 100. 2006, s. 486–494.
2. AL-RAWAHI, A. K.; HANCOCK, J. G. *Rhizosphere competence of Pythium oligandrum*. Phytopathology, 1997, Volume 87, No. 9, s. 951-959.
3. BARTUŇKOVÁ, J. - ŠEDIVÁ, A. - JANDA, A. *Imunodeficiency*. [online]. [cit. 2014-07-12]. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2007, 254 s. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=Yq6X-B7y1roC&pg=PA129&lpg=PA129&dq=chronick%C3%A1+mukokut%C3%A1nn%C3%AD+kandid%C3%B3za&source=bl&ots=QxrHhJKe6i&sig=h9aCOAVB4QZcOr5gkDA4k6ByZPA&hl=cs&sa=X&ei=jcXBU4XIENLy7AaDqYHwBw&ved=0CCQQ6AEwATgK#v=onepage&q=chronick%C3%A1%20mukokut%C3%A1nn%C3%AD%20kandid%C3%B3za&f=false>>. ISBN 978-80-247-1980-1.
4. BENHAMOU, N. - LE FLOCH, G. - VALLANCE, J. - GERBORE, J. - GRIZARD, D. - REY, P. *Pythium oligandrum: an example of opportunistic success*. Microbiology, 2012-11-01, vol. 158, s. 2679-2694.
5. *Bio Agens Research and Development - BARD, s.r.o., Bard*. [online]. [cit. 2014b-04-27]. Dostupné z: <<http://eshop.pythium.cz/cs/>>.
6. *Biopreparáty, spol. s r. o. Polyversum®*. [online]. [cit. 2014c-04-17]. Dostupné z: <<http://www.biopreparaty.eu/biopreparaty/o-firme>>.
7. BRAUN-FALCO, O. Fungal disease. In *Dermatology*. [online]. [cit. 2014-07-12]. Springer Science & Business Media, 2000, 2. vydání. Kapitola 7, s. 313-358. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=HkOty7O_KlkC&pg=PA329&dq=Tinea+ma

nus&hl=cs&sa=X&ei=pqnBU9L5JOLA7AaH5IDYAg&ved=0CCcQ6AEwAQ#v=onepage&q=Tinea%20manus&f=false>. ISBN 35-405-9452-3

8. BRYCHTOVÁ, S. - LOBILKOVÁ, A. *Histopatologický atlas*. [online]. [cit. 2014-07-12]. 1. vyd. Praha: Grada, 2008, 112 s. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=CknUyXLOz5sC&pg=PA30&dq=Aspergil%C3%B3za&hl=cs&sa=X&ei=w_PCU4yoCu_y7AabwYG4Bw&redir_esc=y#v=onepage&q=Aspergil%C3%B3za&f=false>. ISBN 978-802-4716-503.
9. DEACON, J. Fungal structure and ultrastructure. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006a. Kapitola 3., s. 48 – 66. ISBN 14-051-3066-0.
10. DEACON, J. Fungal spores, spore dormancy, and spore dispersal. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006b. Kapitola 10., s. 184 – 212. ISBN 14-051-3066-0.
11. DEACON, J. The diversity of fungi and fungus-like organisms. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006c. Kapitola 2., s. 16 – 47. ISBN 14-051-3066-0.
12. DEACON, J. Differentiation and development. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006d. Kapitola 5., s. 85 – 109. ISBN 14-051-3066-0.
13. DEACON, J. Fungal interactions: mechanisms and practical exploitation. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006e. Kapitola 12., s. 237 – 255. ISBN 14-051-3066-0.
14. DEACON, J. Environmental conditions for growth, and tolerance of extremes. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006f. Kapitola 8., s. 142 – 156. ISBN 14-051-3066-0.

15. DICK, M. W. Classification of the *Peronosporomycetes*. In *Encyclopedia of Food microbiology* (Richard K. Robinson eds). San Diego: Academic Press, 2000, str. 871-883. ISBN: 0-12-227070-3.

16. DICK, M. W. The Peronosporomycetes. In: *The Mycota VII. A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research: Systematics and evolution*. Berlin: Springer-Verlag, 2001. Kapitola 2, s. 39-72.
Dostupné z: http://books.google.cz/books?id=-GyARbyTobYC&pg=PA39&dq=DBVs+vesicular&hl=cs&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q=DBVs%20vesicular&f=false. ISBN 3540580085.

17. EUROPEAN COMMISSION. FINAL. Review report for the active substance *Pythium oligandrum* M1. EUROPEAN. 14.5.2008. [online]. [cit. 2014-06-22].
Dostupné z: <http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/M1.pdf>.

18. FINCHER, G. B. – BACIC, A. – STONE, B. A. Chemistry and physicochemistry. In *Chemistry, biochemistry, and biology of (1-3)-[beta]-glucans and related polysaccharides* [online]. [cit. 2014-05-16]. 1. vyd. Amsterdam: Academic Press/Elsevier, 2009. Kapitola 2., s. 15 – 118. Dostupné z: [http://books.google.cz/books?id=i3Jc8iZ6GHMC&printsec=frontcover&dq=Chemistry,+biochemistry,+and+biology+of+%281-3%29-\[beta\]-glucans+and+relatedpolysaccharides&hl=cs&sa=X&ei=V_2fU-34Clbm7AbEpoG4CA&redir_esc=y#v=onepage&q=Chemistry%2C%20biochemistry%2C%20and%20biology%20of%20%281-3%29-\[beta\]-glucans%20and%20relatedpolysaccharides&f=false](http://books.google.cz/books?id=i3Jc8iZ6GHMC&printsec=frontcover&dq=Chemistry,+biochemistry,+and+biology+of+%281-3%29-[beta]-glucans+and+relatedpolysaccharides&hl=cs&sa=X&ei=V_2fU-34Clbm7AbEpoG4CA&redir_esc=y#v=onepage&q=Chemistry%2C%20biochemistry%2C%20and%20biology%20of%20%281-3%29-[beta]-glucans%20and%20relatedpolysaccharides&f=false). ISBN: 00-809-2054-3.

19. HABER, J. Systémové mykózy a jejich léčba. 1. vyd. Praha, 1995, 319 s. ISBN 80-858-2416-7.

20. HAMAL, P. - SVOBODOVÁ, L. (2011): *Mykózy a antimykotika*. Interní medicína pro praxi, 13 (11), s. 445-449.

21. HENDRYCHOVÁ, T. - MALÝ, J. *Volně prodejná antimykotika*. Praktické lékařství, 2011, 7(3), s. 132-137.
22. HORNER, N. R.- GRENVILLE-BRIGGS, L. J. - VAN WEST, P. *The oomycete Pythium oligandrum expresses putative effectors during mycoparasitism of Phytophthora infestans and is amenable to transformation*. Fungal Biology. 2012, Vol. 116, Issue 1, s. 24-41.
23. *Indikace*. Polyversum®. [online]. [cit. 2014d-06-30]. Dostupné z: <<http://www.biopreparaty.eu/indikace/>>
24. JEDLIČKOVÁ, A. *Systémové mykózy: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, 2006, 130 s. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 80-734-5101-8.
25. JEDLIČKOVÁ, A. - MAŠATA, J. - SKOŘEPOVÁ, M.. *Lokální mykózy: Průvodce ošetřujícího lékaře*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2008, 176 s. Farmakoterapie pro praxi, sv. 31. ISBN 978-807-3451-509.
26. KLABAN, Vladimír. *Ekologie mikroorganismů: Ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů*. 1. vyd. Praha: Galén, 2011, 549 s., ISBN 978-807-2627-707.
27. KOĐOUSEK, Rostislav. *Mykózy: lékařsky významná mykotická onemocnění člověka*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2003, 199 s. ISBN 80-244-0649-7.
28. KUKLOVÁ, Ivana. *Onychomykózy*. Medicína pro praxi. 2011, vol 8, issue 2., s. 73-75.
29. KULÍKOVÁ, Zuzana. *ONYCHOMYKÓZY*. Dermatologie pro praxi. 2008, vol 2, issue 1, s. 19–21.
30. LASCOMBE, M.-B. - MILAT, M.-L. - BLEIN, J.-P. -PANABIÈRES, F. - PONCHET, M. - PRANGÉ, T. *Crystallization and preliminary X-ray studies of oligandrin, a sterol-carrier elicitor from Pythium oligandrum*. Acta

Crystallographica Section D Biological Crystallography. 2000, Vol. 56, Issue 11, s. 1498-1500.

31. LE FLOCH, G. - REY, P. - BENIZRI, E. - BENHAMOU, N. - TIRILLY, Y. *Impact of auxin-compounds produced by the antagonistic fungus Pythium oligandrum or the minor pathogen Pythium group F on plant growth.* Plant and Soil. Vol. 257, Issue 2, 2003, s. 459-470.
32. LODHI, A. M. - SHAHZAD, S. - GHAFAR, A. *NEW REPORT OF PYTHIUM OLIGANDRUM.* Pak. J. Bot. 2005. Vol. 37, Issue 2, s. 487-491.
33. MASUNAKA, A. - SEKIGUCHI, H. - TAKAHASHI, H. - TAKENAKA, S. *Distribution and Expression of Elicitin-like Protein Genes of the Biocontrol Agent Pythium oligandrum.* Journal of Phytopathology. Vol 158, Issue 6, 2010, s. 417-426.
34. *Mechanismy účinku pythium oligandrum.* Polyversum®. [online]. [cit. 2014b-04-27]. Dostupné z: <<http://www.biopreparaty.eu/casto-kladene-dotazy/mechanismy-ucinku-pythium-oligandrum>>.
35. MENCL, K. *Je možné ovlivnit dermatomykózy ekologicky? Československá dermatologie*, 2002, roč. 77, č. 2, s. 71-75.
36. MENCL, K. - Bureš, I. - Poláková, H. - Stuchlík, D. *Ovlivnění hnisajících a nehojících se ran pomocí mikromycety Pythium oligandrum.* Hojení ran, XII. Celostátní kongres s mezinárodní účastí. Mezioborová spolupráce při léčbě ran a kožních defektů, leden 2014.
37. MENCL, K - KLIMEŠ, R. *UNIKÁTNY OBJAV NAPOMÔŽE ODSTRÁNENIU PLESNÍ, ATOPICKÉHO EKZÉMU A LUPIENKY?* I. diskusné fórum klinickej mikrobiológie usporiadané ako VI. odborná konferencia SKM SLK a XL. dni klinickej mikrobiológie SSKM SLS, 2005.
38. MENCL, K. *Přínos biopreparátů obsahujících Pythium oligandrum* [online]. [cit. 2014-04-27]. Dostupné z: <<http://www.pythium.eu/cs/pro-lekare/>>.

39. MENCL, K. *Přírodou proti dermatomykózám*. *Derma*, 1 : 8 - 12, 2001.
40. NAČERADSKÁ, M. - MENCL, K. - ZÁLABSKÁ, E. *LÉČBA DERMATOFYTÓZY POMOCÍ PYTHIUM OLIGANDRUM - KAZUISTIKA*. *Veterinární lékař*, ročník 9, 2011, číslo 1, s. 11-15.
41. NAČERADSKÁ, M. *Využití biolampy při hojení komplikované rány*. *Veterinární ordinace, Praha Veterinářství 2010*; 60, s. 7-12.
42. NAVRÁTILOVÁ, M. *Pythium oligandrum M1 (oospory)*. Poslední úprava: 3.9.2013. [online]. [cit. 2014-04-18]. Dostupné z: <http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1834>.
43. *O plísních*. *Bio Repel*. [online]. [cit. 2014c-06-29]. Dostupné z: <<http://www.biorepel.cz/>>.
44. PAŘÍKOVÁ, J. SZÚ Praha. *Zabránění vzniku, rozvoje a šíření mikroskopických vláknitých hub - plísní v zaplavených oblastech*. [online]. [cit. 2014-06-29]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/prilohy/zabraneni_vzniku_vklakni_tych_hub-plisni.pdf>.
45. PICARD, K. - PONCHET, M. - BLEIN, J-P - REY, P - TIRILLY. Y. - BENHAMOU, N. *Oligandrin. A Proteinaceous Molecule Produced by the Mycoparasite Pythium oligandrum Induces Resistance to Phytophthora parasitica Infection in Tomato Plants*. *Plant Physiology*. Vol. 124, 2000, s. 379–395.
46. PIZINGER, K. *Kožní projevy nemocí metabolismu a výživy* In: *Kožní změny u interních onemocnění*. [online]. [cit. 2014-07-12]. 1. vyd. Praha: Grada, 2010. Kapitola 4, s. 65-88. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=cUgqjFKZdtMC&pg=PA72&dq=kandidov%C3%A9+paronychium&hl=cs&sa=X&ei=fcnBU-29JqL7Aab3YCYCQ&ved=0CB4Q6AEwAA#v=onepage&q=kandidov%C3%A9+20paronychium&f=false>>. ISBN 978-802-4710-044.

47. PORSCHE, Demetrius J. *Tinea Cruris: A Bothersome Male Condition* The Journal for Nurse Practitioners. 2006a, vol. 2, issue 2, s. 84-85.
48. PORSCHE, Demetrius J. *Tinea Pedis: A Common Male Foot Problem*. The Journal for Nurse Practitioners. 2006b, vol. 2, issue 3, s. 152-153.
49. *Použití. Bio Repel*. [online]. [cit. 2014a-06-29]. Dostupné z: <<http://www.biorepel.cz/>>.
50. PROCHÁZKOVÁ-RULFOVÁ. *Polyversum - biologický fungicid na ochranu rostlin* [online]. [cit. 2014-05-16]. Sborník z konference Prosperující olejníny, 2009, s. 110-112. Dostupné z: <http://konference.agrobiologie.cz/2009-12-10/24-prochazkova_rulfova_polyversum_-_biologicky_fungicid_na_ochranu_rostlin.pdf>.
51. *Proti plísni na zdi. Bio Repel*. [online]. [cit. 2014e-06-29]. Dostupné z: <<http://chytra-houba.eu/8,bio-repel.html>>.
52. *Příbalový leták. Polyversum®*. [online]. [cit. 2014a-06-30]. Dostupné z: <http://www.biopreparaty.eu/images/stories/PRIBALOVY_LETAK-04042012.pdf>.
53. *Pythium Oligandrum - chytrá houba. Bio Repel*. [cit. 2014d-06-29]. Dostupné z: <<http://www.biorepel.cz/pythium.htm>>.
54. REBOLLO, N. - LÓPEZ-BARCENAS, A. P., - ARENAS, R. *Tinea capitis*. Actas Dermosifiliogr. 2008; vol 99, issue 2, s. 91-100.
55. *Reference. Bio Repel*. [online]. [cit. 2014b-06-29]. Dostupné z: <<http://www.biorepel.cz/>>.
56. ŘÍHOVÁ, E. Uvea. In: *Oční lékařství*. [online]. [cit. 2014-07-12]. 1.vyd. Praha: Grada, 2007. Kapitola 12, s. 427-478. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=MrJkMOqOrJMC&pg=PA443&lpg=PA443&dq=exogenn%C3%AD+endoftalmitida&source=bl&ots=JpW25tenNP&sig=YU>>

S6J_LzLghcGkg2oVftYH8cvi0&hl=cs&sa=X&ei=_c_CU7rvPMiS7Aab-4HQBQ&ved=0CC8Q6AEwAw#v=onepage&q=exogenn%C3%AD%20endofta lmitida&f=false>. ISBN 978-802-4711-638.

57. ROZTOČIL, A. Záněty v gynekologii. In: *Moderní gynekologie*. [online]. [cit. 2014-07-12]. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. Kapitola 13, s. 185-202. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=iw1-i00lB0oC&pg=PA190&dq=vulvovagin%C3%A1ln%C3%AD+kandid%C3%B3za&hl=cs&sa=X&ei=vM_BU-bELIqp7AbImoCQBA&ved=0CDsQ6AEwBA#v=onepage&q=vulvovagin%C3%A1ln%C3%AD%20kandid%C3%B3za&f=false>. ISBN 978-802-4728-322.
58. SKOŘEPOVÁ, Magdalena. *Dermatomykologie v obrazech*. 1. vyd. Praha: Galén, 2008, 95 s. ISBN 978-807-2624-652.
59. STUHLÍK, D. *Diagnostika a léčba mykóz*. Dermatologie pro praxi. 2010, vol. 4, issue 1, s. 55-58.
60. TEPLAN, V. *Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku*. [online]. [cit. 2014-07-12]. 1. vyd. Praha: Grada, 2004. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=ixhM65QOvDwC&pg=PA159&dq=Mukormyk%C3%B3za&hl=cs&sa=X&ei=LPzCU5SRB8WQ7AbtkoG4Dg&ved=0CCAQ6AEwAA#v=onepage&q=Mukormyk%C3%B3za&f=false>>. ISBN 978-802-4705-668.
61. TOMŠÍKOVÁ, A. *Nové poznatky v diagnostice mykóz*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006, 283 s. ISBN 80-246-1051-5.
62. TRILLAS, M. I. - SEGARRA, G. Interactions Between Nonpathogenic Fungi and Plants In: *Advances in Botanical Research: Plant innate immunity. Volume 51*. (Delseny et al.). Academic Press, 2009. s. 321-360. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=voKXDPbea80C&dq=Oligandrin.+A+Proteinaceous+Molecule+Produced+by+the+Mycoparasite+Pythium+oligandrum+Indu>

ces+Resistance+to+Phytophthora+parasitica+Infection+in+Tomato+Plants&hl=cs&source=gbs_navlinks_s>. ISBN 978-008-0888-798.

63. VAN DER PLAATS-NITERINK, J. *Monograph of the genus Pythium. Studies in Mycology*. 1981, Vol. 21. [online]. [cit. 2014-06-16] Dostupné z: <http://www.fungalbiodiversitycentre.com/publications/1021/content_files/content.htm>.
64. *Veterinární přípravky*. Bard. [online]. [cit. 2014a-07-15]. Dostupné z: <<http://www.pythium.eu/cs/veterinarni-pripravky-1/>>.
65. VĚCHET. *Mechanizmy interakcí hostitel - patogen a základy šlechtění na odolnost*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2012, 66 s. ISBN 978-80-7427-072-7.
66. VOSMÍK, F. - SKOŘEPOVÁ, M. *Dermatomykózy: Diagnostika a terapie dermatologických mykotických infekcí*. 1. vyd. Praha: Galén, 1995, 140 s. ISBN 80-858-2423-X.
67. VYAS, J. *Candida infection of the skin*. 2012. [online]. [cit. 2014-07-12]. Dostupné z: <<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000880.htm>>.
68. WANG, A. - LOU, B. - XU, T. - LIN, Ch. *Defense responses in tomato fruit induced by oligandrin against Botrytis cinerea*. Academic Journals. 2011, Vol. 10, Issue 22, s. 4596-4601.
69. WHIPPS, J - R LUMSDEN. Mechanism of biological disease control with special reference to the case study of *Pythium oligandrum* as an antagonist. In *Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth: Symposium of the British Mycological Society held at the University of Sussex* [online]. [cit. 2014-04-03]. Published for the British Mycological Society by Cambridge University Press, 1989. Kapitola 9., s. 191 – 218. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=rBB6DE-ouXIC&hl=cs&source=gbs_navlinks_s. ISBN: 978-0-521-38236-6>.

70. Zákon č. 252/1997 Sb. [online]. [cit. 2014-06-30]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=252~2F1997&rpp=15#seznam>.
71. ZAMIR K. PUNJA - YE-YAN ZHANG. *Plant Chitinases and Their Roles in Resistance to Fungal Diseases*. The Society of Nematologists. Journal of Nematology. 1993, Vol. 25, Issue 4, s. 526-540.

9 Seznam obrázků

1. Obrázek č. 1 - Odlišnosti oomycet a pravých hub. [online]. [cit. 2014-05-16].
Dostupné z:
<<http://lsb380.plbio.lsu.edu/mycology/Fungus%20slimemold%20oom.jpg>>.
2. Obrázek č. 2 - Křivka závislosti růstu na pH. DEACON, J. Environmental conditions for growth, and tolerance of extremes. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006a. Kapitola 8., s. 142 – 156. ISBN 14-051-3066-0.
3. Obrázek č. 3 - *P. oligandrum* na předkolonizovaném agaru. DEACON, J. Fungal interactions: mechanisms and practical exploitation. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006b. Kapitola 12., s. 237 – 255. ISBN 14-051-3066-0.
4. Obrázek č. 4 - Vývojový cyklus *P. oligandrum*. [online]. [cit. 2014-06-23]
Dostupné z: <http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/images/pythium_cycle.gif>.
5. Obrázek č. 5 - Sporangium s vezikulem. DEACON, J. The diversity of fungi and fungus-like organisms. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006b. Kapitola 2., s. 16 – 47. ISBN 14-051-3066-0.
6. Obrázek č. 6 - Zoosporangia a zoospory - ABDELZAHER, H. M. A. - SHOULKAMY, M. A. - YASER, M. M. Kinds, Abundance and Pathogenicity of Pythium Species Isolated from Maize Rhizosphere of Various Habitats in El-Minia Governorate, Egypt. The Korean Society of Mycology. Mycobiology. 2004, Vol 32, Issue 1, s. 35-41.
7. Obrázek č. 7 - Zoospora. DICK, M. W. Classification of the Peronosporomycetes. In *Encyclopedia of Food microbiology* (Richard K. Robinson eds). San Diego: Academic Press, 2000, str. 871-883. ISBN: 0-12-227070-3
8. Obrázek č. 8 - Oogonia a antheridium. J. VAN DER PLAATS-NITERINK. Monograph of the genus Pythium. Studies in Mycology. 1981, Vol. 21. [online].

- [cit. 2014-06-22]
<http://www.fungalbiodiversitycentre.com/publications/1021/content_files/content.htm>.
9. Obrázek č. 9 - Oospory s výběžky. ABDELZAHER, H. M. A. - SHOULKAMY, M. A. - YASER, M. M. Kinds, Abundance and Pathogenicity of *Pythium* Species Isolated from Maize Rhizosphere of Various Habitats in El-Minia Governorate, Egypt. The Korean Society of Mycology. Mycobiology. 2004, Vol 32, Issue 1, s. 35-41.
 10. Obrázek č. 10 - Hyfa obtáčí mycelium hostitele. *Pythium oligandrum* při práci. Bard. [online]. [cit. 2014-05-16]. Dostupné z: <<http://www.pythium.eu/cs/pythium-oligandrum-pri-praci-2/>>.
 11. Obrázek č. 11 - Studie mykoparazitismu - *P. oligandrum* a *Botrytis cinerea* - DEACON, J. Fungal interactions: mechanisms and practical exploitation. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006c. Kapitola 12., s. 237 – 255. ISBN 14-051-3066-0.
 12. Obrázek č. 12 - Interakce mezi *P. oligandrum* a *R. solani*. - DEACON, J. Fungal interactions: mechanisms and practical exploitation. In *Fungal biology*. 4. vyd. Oxford: Blackwell Publishing, 2006c. Kapitola 12., s. 237 – 255. ISBN 14-051-3066-0.
 13. Obrázek č. 13 - 1. zkouška přípravku Bio Repel. Reference. Bio Repel. [online]. [cit. 2014b-06-29]. Dostupné z: <<http://www.biorepel.cz/>>.
 14. Obrázek č. 14 - 2. zkouška přípravku Bio Repel. Reference. Bio Repel. [online]. [cit. 2014b-06-29]. Dostupné z: <<http://www.biorepel.cz/>>.
 15. Obrázek č. 15 - Interakce mezi *P. oligandrum* a *Fusarium culmorum*. [online]. DEACON, J., [cit. 2014-06-20]. Dostupné z: <<http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/oligand.htm>>.

16. Obrázek č. 16 - Efekt léčby rostliny napadené *Phytophthora parasitica* oligandrinem. PICARD, K. - PONCHET, M. - BLEIN, J-P - REY, P - TIRILLY. Y. - BENHAMOU, N. Oligandrin. A Proteinaceous Molecule Produced by the Mycoparasite *Pythium oligandrum* Induces Resistance to *Phytophthora parasitica* Infection in Tomato Plants. *Plant Physiology*. Vol. 124, 2000, s. 379–395.

17. Obrázek č. 17 - Laboratorní nálezy. MENCL, K. *Nature against dermatomycosis*. 2001. [online]. [cit. 2014-07-15]. Dostupné z: <<http://pythium-oligandrum.owndoc.com/pythium-oligandrum-study.html>>.

18. Obrázek č. 18 - Výsledky použití preparátu Biodeur. MENCL, K. *Nature against dermatomycosis*. 2001. [online]. [cit. 2014-07-15]. Dostupné z: <<http://pythium-oligandrum.owndoc.com/pythium-oligandrum-study.html>>.