

Chytridiomykóza – hrozba pro naše obojživelníky?

Petr Civiš, Jiří Vojar, Vojtech Baláž

Chytridiomykóza je globálně rozšířené houbové onemocnění obojživelníků s výrazným dopadem na jejich populace. Ačkoliv obojživelníci trpí řadou dalších houbových, virových nebo bakteriálních nemocí, pouze chytridiomykóza má na svědomí masové vymírání desítek druhů. V roce 2008 byla poprvé zjištěna i v České republice, v roce následujícím byl její výskyt potvrzen. Měli bychom se jí obávat? A co o ní vlastně víme?

Objevení nemoci a její rozšíření

Koncem 90. let minulého století bylo nezávisle v Austrálii a ve Střední Americe objeveno onemocnění kůže obojživelníků vyvolané chytridiomycetní houbou, které bylo nazváno chytridiomykózou (BERGER et al. 1998). Původce této choroby byl vzápětí popsán jako nový druh – *Batrachochytrium dendrobatidis* (dále jen *Bd*, LONGCORE et al. 1999). Retrospektivní vyšetřování muzejních vzorků posunulo datum prvního známého výskytu nemoci do roku 1933 (bylo zjištěno u afrických drápaků r. *Xenopus*, SOTO-AZAT et al. 2009). Další záznamy jsou z let 1961 (Kanada), 1974 (USA), 1978 (Austrálie), 1986 (Ekvádor) a 1999 (Nový Zéland, JOHNSON & SPEARE 2003). Dosud byla *Bd* prokázána ve všech světadílech kromě Antarktidy u více než 350 druhů obojživelníků a bývá spojována s vyhynutím řady populací a nejméně 34 druhů žab (BRIGGS et al. 2005, FISCHER et al. 2009). V Evropě byla *Bd* zjištěna u třetiny (29) volně žijících druhů na území 15 států (Česká republika, Estonsko, Francie, Chorvatsko, Itálie, Lotyšsko, Lucembursko, Maďarsko, Německo, Portugalsko, Slovensko, Slovinsko, Španělsko, Švýcarsko, Velká Británie, GARNER et al. 2005, WOOD et al. 2009, VÖRÖS et al., in prep.).

V roce 2001 byla chytridiomykóza zapsána na seznam nemocí divoce žijících zvířat (Wildlife Disease List) Světové organizace pro zdraví zvířat (The World Organisation for Animal Health) jako první nemoc obojživelníků (JOHNSON & SPEARE 2003). Šíření nákazy značně podporuje člověk introdukcemi druhů do nových oblastí a celosvětovým obchodem s obojživelníky, určenými pro vědecké

účely a konzumaci (DOBSON & FOUFOPOULOS 2001, DASZAK et al. 2001, 2004).

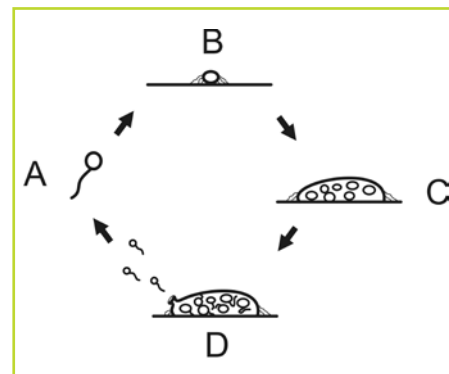
Biologie a přenos patogenu

Oddělení Chytridiomycota (Chytridiomycota) sestává v současné době z jedné třídy, pěti řádů a přibližně 150 druhů (BERGER et al. 1998). Obecně jsou chytridiomycetní houby v prostředí všudypřítomné. Lze je nalézt nejen ve vodě, ale i ve vlhké půdě, kde degradují celulózu, chitin a keratin. Dosud známé parazitické chytridiomycety napadají většinou rostliny, řasy, mikroskopické organismy a bezobratlé (DASZAK et al. 1999). *Bd* je tudíž jediným známým druhem, který je patogen i pro obratlovce (WILLIAMS et al. 2002).

Bd se vyskytuje ve dvou formách – jako kulovité přisedavé zoosporangium o průměru 10–40 µm či pohyblivá zoospóra o velikosti přibližně 2 µm. Pohyblivá zoospóra se při kontaktu se substrátem během čtyř dnů vyvine v zoosporangium. Z něho jsou následně pomocí výpustní trubice uvolňovány nové zoospory, které mohou žít ve vodě až sedm týdnů (JOHNSON & SPEARE 2003) a jsou infekční pro žáby i pulce (obr. 1). Ve stojaté vodě plavou zoospory na velmi krátké vzdálenosti (méně než 2 cm). Nákaza se proto nejčastěji šíří pomocí blízkého nebo přímého kontaktu zejména během rozmnožování (PIOTROWSKI et al. 2004). Potenciálně však i při záchranných transferech – zvířaty napěchované padací past nebo transportní kyblík je totiž pro přenos zoospor přímo ideálním prostředím.

Působení nemoci a její dopad

Po propuknutí chytridiomykózy dochází u nemocného obojživelníka k poškození kůže a ke ztrátě její funkčnosti. Nadměrně se odlupují zrohovatělé vrstvy pokožky, kůže na bříše, chodidlech a prstech se výrazně prokrvuje (BERGER et al. 1999). V důsledku toho se zhoršuje schopnost kožního dýchání a vstřebávání vody. Následkem poruchy osmoregulačních funkcí kůže a s tím související ztrátou solí dochází k poruchám vedení vzruchů a nakonec k srdeční zástavě (VOYLES et al. 2009). U pulců nakažených chytridiomykózou se dá pozorovat rohovatění částí ústního ústrojí (WILLIAMS et al. 2002), ale ani u velmi citlivých druhů nemusí docházet, a často nedochází, k úhy-



Obr. 1 Schematický náčrt životního cyklu *Bd*. Po pohyblivém období trvajícím obvykle méně než 24 hod. (A) zoospory encystují, vstřebávají svůj bičík a vyklíčí na povrchu pokožky obojživelníka přichyceny rhizoidy (B). Stélka roste a během čtyř až pěti dnů vytvoří zralé sporangium (C). Po mitotickém dělení se obsah stélky rozštěpí na zoospory, zformují se výpustní papíly a zoospory jsou vypuštěny do okolního prostředí (D), čímž se cyklus uzavírá (podle BERGER et al. 2005).

nům. Přítomnost *Bd* na pulcích hraje důležitou roli v jejím životním cyklu. Díky nim může houba přežívat i ve velmi redukovaných populacích, dokonce i bez dospělých jedinců (PARRIS et al. 2006).

Pravděpodobnost propuknutí nemoci u infikovaných jedinců i doba, za kterou houba nemocného obojživelníka případně zabije, jsou druhově specifické. Záleží rovněž na abiotických (nadmořská výška, klimatické podmínky, disturbance území) a biotických (konkurenční druhy, stáří populace, vrozená imunita) podmínkách. V některých případech jsou obojživelníci produkcí kožních peptidů a přítomností symbiotických bakterií schopni infekci zabránit, zbrzdit ji nebo úplně zastavit průběh nemoci (ROLLINS-SMITH et al. 2003, HARRIS et al. 2009).

Jak nemoc rozpoznat?

Pro detekci v terénu jsou kromě rohovatění a odlupování pokožky (to ovšem probíhá i při její obvyklé výměně) nejdůležitější změny v chování obojživelníků. Častými projevy nemoci jsou strnulost v nepřírozené poloze, letargické pohyby, ztráta přirozených reflexů, nezdar při hledání úkrytu, neochota k úniku

či sezení se zadníma nohama od těla. S jistotou lze chytridiomykózu potvrdit pouze histologickým vyšetřením anebo průkazem přítomnosti DNA patogenu, např. pomocí PCR (polymerázové řetězové reakce). Pro tyto metody se používají ústřížky prstů, kousky kůže nebo celí juvenilní (nedospělí) jedinci. Pro svou nedeštruktivnost a dostatečnou výpovědní hodnotu jsou však nepoužívanější metodou stěry pokožky za použití vatových špiček, nejlépe všeobecně používanými mikrobiologickými výtěrkami Dryswab™ MW 100. Sterilizovanou bavlněnou špičkou výtěrky se přejíždí pětkrát tam a zpět po obou bocích těla, břiše a spodní straně stehů zadních nohou jedince (obr. 3). Poté se špičkou jedenkrát přejede po spodní straně plovací blány mezi všemi prsty obou zadních nohou. Takto získaný stěr se až do zpracování musí uchovat v originálním obalu, nejlépe v lednici při teplotě 4 °C. Nalezená těla uhybnulých obojživelníků je ideální konzervovat ve zmraženém stavu. Pokud to není možné, lze je pro případné pozdější histologické vyšetření uchovat v 10% formalínu nebo 96% lihu. Důležité je u každého vzorkovaného jedince vést dokumentaci včetně fotografického záznamu, přinejmenším však opatřit štítkem s názvem druhu, datem a lokalizací nálezu (GARNER 2008, in litt.).

Zásady při manipulaci s obojživelníky

Lidé přicházející do styku s obojživelníky, ať už jde o dobrovolníky provádějící záchranné transfery, pracovníky ochrany přírody, či vědce, musejí dodržovat základní hygienická pravidla, zejména na lokalitách, kde již byla nemoc prokázána, nebo v případech podezření na její výskyt (nevysvětlitelné úhyny, změny chování zvířat). Hlavní zásadou manipulace s obojživelníky v terénu je minimalizace kontaktu s nimi. Pokud ke kontaktu dojde, je třeba umýt si ruce nebo si vzít nový pár gumových rukavic před tím, než se dotkne dalšího jedince. Při přesunech z lokality

na lokalitu je důležité důkladně očistit a dezinfikovat obuv, rovněž i další vybavení, jako například podběráky či posuvná měřidla. V terénu se doporučuje dezinfikovat na pevném podloží s minimem vegetace a co nejdále od vodního tělesa roztokem běžného domácího bělidla (1 díl bělidla na 9 dílů vody na nejméně 15 minut), dezinfektantem typu Virkon (10 mg/ml nebo podle příložených instrukcí po dobu jedné minuty) nebo čistícím přípravkem obsahujícím benzalkonium chlorid. Nejšetrnější metodou dezinfekce pro okolí je úplné vysušení na slunci po dobu nejméně tří hodin (WILLIAMS et al. 2002). Všude, kde je to možné, se doporučuje používat nástrojů na jedno použití. Dezinfekční roztoky nesmějí přijít do styku s žádným obojživelníkem ani nesmějí kontaminovat žádnou vodní nádrž (<http://www.arg-uk.org.uk/Downloads/ARGUKAdvice-Note4.pdf>, verze z 1. 2. 2008).

Výzkum a výskyt nemoci v České republice

Druhá diverzita obojživelníků je v naší zemi na evropské podmínky vysoká. Česká republika je kromě toho místem, kde se unikátně setkávají východní a západní faunistické prvky. Jedná se o výjimečnou oblast, kde je příležitost studovat dopad chytridiomykózy jak na druhy panevropsky rozšířené, tak na izolované populace na okrajích areálů rozšíření nebo dokonce v hybridních zónách druhů. Přesto se u nás zabývají chytridiomykózou jen dvě pracoviště (FŽP ČZU Praha a VFU Brno, tj. pracoviště autorů). Dosud byly provedeny pouze dva terénní průzkumy (2008, 2009). Rovněž povědomí o nemoci je i mezi odborníky velmi nízké. První z autorů založil webové stránky se základními informacemi o této problematice (chytrid.herp.cz). Kromě toho je zde popsáno správné zacházení s obojživelníky v terénu s důrazem na hygienu a zabránění dalšímu šíření. Prostřednictvím formuláře je možné hlásit nálezy podezřelých jedinců.

V České republice byla chytridiomykóza dosud zaznamenána u třech taxonů – skokanů r. *Pelophylax*, ropuchy obecné (*Bufo bufo*) a kuňky obecné (*Bombina orientalis*). Přítomnost *Bd* u prvních dvou byla prokázána v roce 2008 na dvou lokalitách v Praze (Prokopské údolí, Říčanský potok, Vörös et al. 2010, in prep.). Vzhledem k tomu, že v případě ropuchy obecné se jednalo o jediný pozitivní vzorek, přítomnost *Bd* bude nutné lépe podložit.

První rozsáhlejší průzkum byl proveden Civišem a Vojarem v roce 2009 (Vörös et al. 2010, in prep.). Vzorkování byli jedinci celkem čtyř druhů: čolek obecný (*Triturus vulgaris*, 31 jedinců), čolek velký (*Triturus cristatus*, 30 jedinců), kuňka obecná (16 jedinců) – všechny tři druhy ze dvou vodních ploch na Růžodolské výsypce na Mostecku a dále ropuchy obecné ze tří odlišných oblastí: Hornojířetinská výsypka na Mostecku (30 jedinců), areál ČZU v Praze-Suchbale (33 jedinců), rybníky Nový a Mlýnský Tuchoř u Českého Brodu (32 jedinců). Všechna zvířata byla po provedení stěrů okamžitě vrácena na místo odchytu. Přítomnost nemoci byla zjištěna u tří kuňek obecných. Během samotného terénního šetření nebyl nalezen žádný obojživelník, který by projevoval klinické příznaky nemoci. Pozitivní kuňky se chovaly a vypadaly zcela normálně (obr. 2), což potvrdily i zpětně kontrolované detailní fotografie jejich těla (Vörös et al. 2010, in prep.).

Závěr – máme se bát aneb řešení místo strašení

Chytridiomykóza je v ČR, podobně jako v dalších zemích s potvrzeným výskytem, nejspíše rozšířena plošně. Doposud u nás nebyly zaznamenány výraznější populační poklesy či vymizení celých druhů z neznámé příčiny, kterou by mohla být právě chytridiomykóza. Celkově se zdá, že obojživelníci v mírném klimatu mají vyšší schopnost potlačit či nepodporovat růst *Bd* než druhy



Obr. 2 Kuňka obecná, jeden ze vzorkovaných druhů



Obr. 3 Odběr stěru na následnou detekci přítomnosti *Bd*

tropů a subtropů. Nejprve je však třeba experimentálně ověřit citlivost našich druhů a cíleně chránit druhy více ohrožené.

Lze předpokládat, že chytridiomykóza se díky mezinárodnímu obchodu se zvířaty bude dále šířit do nových oblastí a na místech současného výskytu se budou objevovat její nové kmeny. V Evropě je obrovské množství chovatelů exotických druhů z celého světa včetně obojživelníků. Stávající legislativa většiny zemí, jejichž součástí je i veterinární osvědčení o zdravotním stavu, neumožňuje včasnou detekci zvířete nakaženého chytridiomykózou. Bez genetických nebo histologických testů se nemoc zpravidla nepozná, jelikož jedinci nesoucí *Bd* často vypadají zdravě. Úplný zákaz dovozu těchto zvířat není řešením. Díky velikosti trhu by poptávka jenom zvýšila míru nelegálního dovozu a obchodu. Zákaz by zároveň výrazně omezil jakoukoli legální možnost spolupráce s chovateli, kteří jsou nenahraditelným zdrojem detailních informací o biologii velmi vzácných druhů.

Možnosti detekce *Bd* jsou dnes na vysoké úrovni a vyšetřování živých importovaných obojživelníků může být řešením problému. Plošnému monitorování *Bd* zatím brání relativně vysoká finanční náročnost zmíněných vyšetření. Zároveň je potřeba monitorovat vytípané lokality a zjistit význam chytridiomykózy ve volné přírodě. V případě, že se najdou citlivé druhy či populace, musíme být připraveni zajistit vhodný management, v extrémních případech i záchranný chov a následnou reintrodukcii. Současně je nutné pokračovat v osvětě. Aktuální poznatky o významu a potenciálním dopadu chytridiomykózy se musejí dostávat do povědomí odborníků, široké veřejnosti i jednotlivých chovatelů.

P. Civiš a J. Vojar působí na Fakultě životního prostředí, ČZU Praha
V. Baláž v Ústavu biologie a chorob volně žijících zvířat, VFU Brno

LITERATURA

BERGER L., HYATT A. D., SPEARE R., LONGCORE J. E. (2005): Life cycle stages of the amphibian

chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 68: 51-63. – BERGER L., SPEARE R., DASZAK P., GREEN D. E., CUNNINGHAM A. A., GOGGIN C. L., SLOCOMBE R., RAGAN M. A., HYATT A. D., MCDONALD K. R., HINES H. B., LIPS K. R., MARANTELLI G., PARKES H. (1998): Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 95: 9031-9036. – BERGER L., SPEARE R., HYATT A. (1999): Chytrid fungi and amphibian declines: overview, implications and future directions. *Declines and disappearances of Australian frogs*. Environment Australia: Canberra. 23-33. – BRIGGS C. J., VREDENBURG V. T., KNAPP R. A., RACHOWICZ L. J. (2005): Investigating the population – level effects of chytridiomycosis: an emerging infectious disease of amphibians. *Ecology*, 86(12): 3149-3159. – DASZAK P., CUNNINGHAM A. A., HYATT A. D. (2001): Anthropogenic environmental change. *Acta Tropica*, 78: 103-116. – DASZAK P., BERGER L., CUNNINGHAM A. A., HYATT A. D., GREEN D. E., SPEARE R. (1999): Emerging Infectious Diseases and Amphibian Population Declines. *Emerging infectious diseases*, 5(6): 735-748. – DASZAK P., STRIEBY A., CUNNINGHAM A. A., LONGCORE J. E., BROWN C. C., PORTER D. (2004): Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. *Herpetological Journal*, 14(4): 201-207. – DOBSON A. P. & FOUFOUPOULOS J. (2001): Emerging infectious pathogens of wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London. Biological Sciences*, 356: 1001-1012. – FISCHER C. F., GARNER T. W. J., WALKER S. F. (2009): Global Emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and Amphibian Chytridiomycosis in Space, Time, and Host. *The Annual Review of Microbiology*, 63: 291-310. – GARNER T. W. J., WALKER S., BOSCH J., HYATT A. D., CUNNINGHAM A. A., FISHER M. C. (2005): Chytrid fungus in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 11(10): 1639-1641. – HARRIS R. N., BRUCKER R. M., WALKER J. B., BECKER M. H., SCHWANTES C. R., FLAHERTY D. C., LAM B. A., WOODHAMS D. C., BRIGGS C. J., VREDENBURG V. T., MINBIOLE K. P. (2009): Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. *International Society for Microbial Ecology*, 3(7): 818-824. – JOHNSON M. L., SPEARE R. (2003): Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and control implications.

Emerging Infectious Diseases, 9(8): 922-925. – LA MARCA E., LIPS K. R., LÖTTERS S., PUSCHENDORF R., IBÁÑEZ R., RUENDA-ALMONACID J. V., SCHULTE R., MARTY C., CASTRO F., MANZANILLA-PUPPO J., GARCÍA-PÉREZ J. E., BOLAÑOS F., CHAVES G., POUNDS J. A., TORAL E., YOUNG B. E. (2005): Catastrophic Population Declines and Extinctions in Neotropical Harlequin Frogs (*Bufo* spp.: *Atelopus*). *Biotropica*, 37(2): 190-201. – LONGCORE J. E., PESSIER A. P., NICHOLS D. K. (1999): *Batrachochytrium dendrobatidis* gen et sp. nov., a chytrid pathogen to amphibians. *Mycologia*, 91(2): 219-227. – PARRIS M. J., REESE E., STORFER A. (2006): Antipredator behavior of chytridiomycosis-infected northern leopard frog (*Rana pipiens*) tadpoles. *Can. J. Zool.* 84: 58-65. Piotrowski J. S., Annis S. L., Longcore J. F. (2004): Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*, 96(1): 9-15. – POUNDS A. J., BUSTAMANTE M. R., COLOMA L. A., CONSUEGRA J. A., FOGDEN M. P. L., FOSTER P. N., LA MARCA E., MASTERS K. L., MERINO-VITERI A., PUSCHENDORF R., RON S. R., SANCHEZ-AZOFEIFA G. A., STILL C. J., YOUNG B. E. (2006): Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, 439: 161-167. – POUNDS J. A. (2001): Climate and Amphibian Declines. *Nature*, 410: 639-640. ROLLINS-SMITH L. A., CAREY C., CONLON J. M., REINERT L. K., DOERSAM J. K., BERGMAN T., SILBERRING J., LANKINEN H., WADE D. (2003): Activities of temporin family peptides against the chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) associated with global amphibian declines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(3): 1157-1160. – SOTO-AZAT C., CLARKE B. T., POYNTON J. C., CUNNINGHAM A. A. (2009): Widespread historical presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in African pipid frogs. *Diversity and Distribution*, 16(1): 126-131. – VOYLES J., YOUNG S., BERGER L., CAMPBELL C., VOYLES W. F., DINUDOM A., COOK D., WEBB R., ALFORD R. A., SKERRATT L. F., SPEARE R. (2009): Pathogenesis of Chytridiomycosis, a Cause of Catastrophic Amphibian Declines. *Science*, 326: 582-585. – WILLIAMS E. S., YUILL T., ARTOIS M., FISCHER J., HAIGH S. A. (2002): Emerging infectious diseases in wildlife. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 21(1): 139-157. – WOOD L. R., GRIFFITHS R. A., SCHLEY L. (2009): Amphibian chytridiomycosis in Luxembourg. *Bulletin de la Société des Naturalistes Luxembourgeois*, 110: 109-114.

SUMMARY

Civiš P., Vojar J. & Baláž V.: Chytridiomycosis, a Threat to Amphibians in the Czech Republic?

Chytridiomycosis is an infectious disease of amphibians, caused by the chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*, a non-hyphal zoospore-forming fungus. Chytridiomycosis has been linked to dramatic population declines or even extinctions in amphibian species in some world's regions. In the Czech Republic, the disease probably occurs on a large scale, similarly to other countries where its presence has been confirmed. By this time, no sharp population declines or extinction of the whole species, caused by an unknown driver, have been

revealed in amphibians in the country. The disease has been recently reported from three amphibian taxa, namely water frogs of the genus *Pelophylax* and the Common Toad (*Bufo bufo*) in Prague and the Fire-bellied Toad (*Bombina orientalis*), inhabiting a brown-coal mine spoil bank in northern Bohemia. In 2008–2009, the Smooth Newt (*Triturus vulgaris*) and Great Crested Newt (*Triturus cristatus*) were also sampled and no chytridiomycosis was found in individuals tested. Even Fire-bellied toads infected did not display clinical symptoms of the disease. It seems that amphibians in the temperate zone are more able to suppress or at least not support chytridiomycosis growth than those inhabiting tropics or subtropics. Nevertheless, it is necessary to experimentally test the vulnerability of amphibian species occurring in the Czech Republic to the disease and consequently, to target conservation measures at those being more urgently at risk.