

Received: 03.12.2019
Accepted: 27.02.2020
Published: 29.07.2020

Mykobiota ludzkiego przewodu pokarmowego*

Mycobiota of the human gastrointestinal tract

Jakub Ruszkowski^{1,2}, Karolina Kaźmierczak-Siedlecka³, Jacek M. Witkowski¹, Alicja Dębska-Ślizien²

¹ Katedra i Zakład Fizjopatologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

² Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

³ Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

*Praca została sfinansowana przez Gdański Uniwersytet Medyczny (projekt MN 01-0421/08/262, środki statutowe ST-58 oraz ST4 02-0004/07/122).

Streszczenie

Do mikroorganizmów kolonizujących przewód pokarmowy człowieka należą grzyby (Mycota), które zbiorczo określa się mykobiotą przewodu pokarmowego. Obecnie najczęściej wykorzystywaną techniką identyfikacji grzybów jest metoda hodowlana z klasyczną identyfikacją fenotypową, czasem uzupełnioną o testy biochemiczne i/lub badania molekularne (sekwencjonowanie fragmentów ITS rDNA). Coraz częściej, zwłaszcza w badaniach naukowych, wykorzystuje się także najnowsze metody molekularne, które są niezależne od metod hodowlanych. Skład mykobioty różnych części przewodu pokarmowego człowieka jest odmienny. W jamie ustnej osób zdrowych najczęściej identyfikuje się grzyby należące do rodzajów *Candida*, *Cladosporium*, *Auerobasidium* i *Aspergillus*, choć donosi się o istotnym udziale grzybów z rodzaju *Malassezia* w tworzeniu tej mykobioty. W mykobiocie dolnego odcinka przewodu pokarmowego najczęściej wykrywa się grzyby z rodzajów *Candida*, *Saccharomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Cladosporium*, *Galactomyces*, *Debaryomyces*, *Trichosporon*. W artykule przeanalizowano najczęściej opisywane czynniki mające determinować skład mykobioty zarówno u dzieci (wiek dziecka, rodzaj porodu, przyjmowany pokarm), jak i osób dorosłych (wiek, płeć, dieta, skład i szybkość wydzielania śliny). Do zmian w składzie mykobioty dochodzi również w stanach patologicznych, w tym w przebiegu zarówno chorób przewodu pokarmowego (choroba Leśniowskiego-Crohna, liszaj płaski jamy ustnej), jak i chorób metabolicznych (cukrzyca, otyłość). Ponadto przedstawiono poznane i przypuszczalne interakcje między grzybami i bakteriami kolonizującymi ludzki przewód pokarmowy.

Słowa kluczowe: mykobiota, mikrobiom, *Candida*

Summary

Fungi (Mycota) that colonize the human digestive tract are collectively referred to as gastrointestinal mycobiota. The most common method of fungi identification is based on the culture of a clinical sample with subsequent classic phenotypic identification detailed by biochemical and/or molecular (e.g. sequencing of ITS regions of rDNA) tests in some cases. Additionally, the culture-independent identification is gaining popularity, especially in scientific research. The composition of the human mycobiota significantly differs across the digestive tract.

	In the oral cavity of healthy people, <i>Candida</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Auerobasidium</i> , and <i>Aspergillus</i> are most often identified fungi genera; however, in recent studies the presence of <i>Malassezia</i> spp. has been also emphasized. In the case of the lower gastrointestinal tract, <i>Candida</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Malassezia</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Galactomyces</i> , <i>Debaryomyces</i> , and <i>Trichosporon</i> genera are most often reported. This paper summarizes the factors that are associated with the composition of mycobiota in both children (age, type of delivery, breastfeeding) and adults (age, gender, diet, saliva flow rate and composition). Changes in the composition of mycobiota also occur in pathological conditions, including both gastrointestinal diseases (Crohn's disease, oral lichen planus) and metabolic diseases (diabetes, obesity). Additionally, this paper summarizes the already known, putative interactions between fungi and bacteria colonizing the human digestive tract.
Keywords:	mycobiota, microbiome, <i>Candida</i>
GICID	01.3001.0014.3415
DOI:	10.5604/01.3001.0014.3415
Word count:	7728
Tables:	1
Figures:	1
References:	94

Adres autora: lek. Jakub Ruszkowski, Katedra i Zakład Fizjopatologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk; e-mail: jakub.ruszkowski@gumed.edu.pl

WSTĘP

Przewód pokarmowy człowieka jest skolonizowany przez liczne mikroorganizmy należące do wszystkich trzech domen (bakterie, archeony, eukarionty) oraz wirusy [56]. Organizmy te, nazywane mikrobiotą przewodu pokarmowego, odgrywają kluczową rolę w procesach fizjologicznych, takich jak metabolizm niestrawionych składników pożywienia i kształtowanie układu odpornościowego. Mimo że mikrobiota zdominowana jest ilościowo przez bakterie (> 98%) [77], do jej istotnych składowych należą grzyby, które określa się mykobiotą przewodu pokarmowego [52].

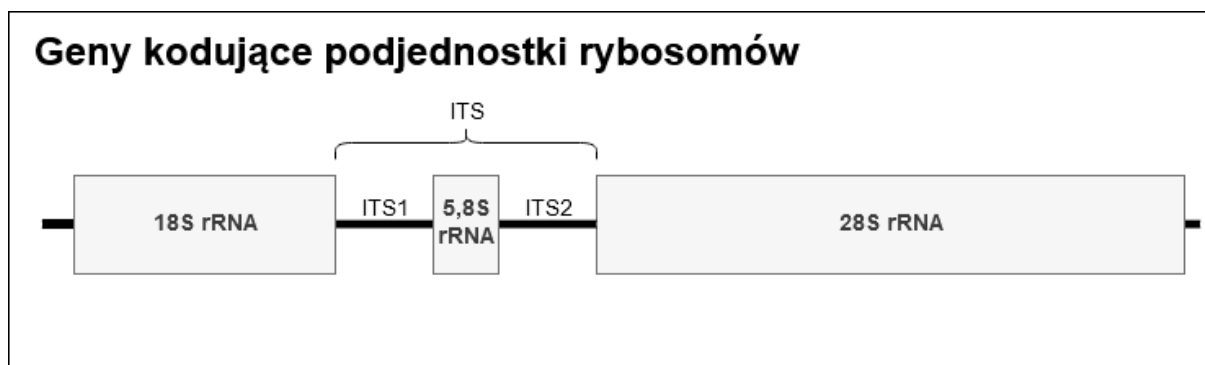
W ostatnich latach temat mykobioty człowieka cieszył się dużym zainteresowaniem, o czym świadczy wzrastająca liczba publikacji jej poświęconych [7, 29, 31, 48, 50, 52, 55, 59, 73]. W artykule przedstawiono współcześnie wykorzystywane metody identyfikacji grzybów w materiale biologicznym pochodzącym z ludzkiego przewodu pokarmowego (ślina, kał i próbki pobrane w czasie badania endoskopowego), proces kształtowania się mykobioty wraz z dojrzewaniem człowieka, poznane interakcje między grzybami a bakteriami w przewodzie pokarmowym oraz zaburzenia składu mykobioty w chorobach człowieka.

METODY IDENTYFIKACJI GRZYBÓW LUDZKIEGO PRZEWODU POKARMOWEGO

Na konwencjonalne badanie mykologiczne składa się wykonanie preparatu bezpośredniego ocenianego mikroskopowo oraz posiew materiału biologicznego na specjalnym podłożu, który umożliwia uzyskanie kolonii, które ocenia się makro- i mikroskopowo za pomocą

testów biochemicznych i/lub metod molekularnych. W badaniu porównawczym metod hodowlanych wykonywanych w badaniach ludzkiej mykobioty przewodu pokarmowego wykazano, że posianie kału na podłożu Sabourauda lub agarze z ziemniaczaną dekstrozą pozwala na uzyskanie większej liczby gatunków niż na podłożu Dixona oraz Czapka-Doxa [41], niemniej część grup badawczych wskazuje na zasadność używania podłoża Dixona z powodu możliwości uzyskania na nim wzrostu grzybów lipofilnych (m.in. *Malassezia* spp.) [35, 38]. Metody oparte na hodowlach pozwalają na zidentyfikowanie mniej niż 30% gatunków grzybów obecnych w jelitach człowieka [52]. Posiew kału zdrowej osoby umożliwia zidentyfikowanie średnio mniej niż trzech gatunków grzybów [41, 47, 83], a liczba uzyskanych kolonii jest dziesięciokrotnie mniejsza w posiewie zamrożonego stolca w porównaniu do świeżej próbki [41].

Współcześnie na badanie mykobiomu (w celach naukowych) składają się następujące etapy: (0) pozyskanie i przechowywanie materiału biologicznego, (1) liza komórek grzybów, (2) przygotowanie bibliotek, (3) wysokowydajne sekwencjonowanie oraz (4) analiza bioinformatyczna. Mrożenie stolca nie wpływa na ilość i jakość uzyskanego grzybowego DNA [41]. Ekstrakcja DNA z komórek grzybów jest jednak bardziej problematyczna niż z komórek bakteryjnych ze względu na odmienną strukturę ściany komórkowej. Dotyczy to przede wszystkim grzybów strzępkowych (*Hyphomycetes*), których ściana komórkowa zawiera dużą ilość chityny, natomiast w znacznie mniejszym stopniu grzybów mających ścianę o relatywnie mniejszej zawartości chityny, takich jak drożdże (yeasts) i grzyby



Ryc. 1. Geny kodujące podjednostki rybosomalne 18S, 5,8S i 28S oraz rozdzielające je regiony niekodujące ITS1 i ITS2

drożdżoidalne (yeast-like fungi). Spośród najczęściej stosowanych metod lizy komórek grzybów i ekstrakcji ich DNA, najbardziej wydajne metody uwzględniają kilkietapową lizę mechaniczną z wykorzystaniem kuleczek cyrkonowych [41]. Do najczęściej amplifikowanych, a następnie wysokowydajnie sekwencjonowanych fragmentów DNA w badaniach ludzkiego mykobiomu należą stosunkowo konserwatywne geny kodujące podjednostki rybosomalne 18S, 5,8S i 28S oraz rozdzielające je regiony niekodujące ITS (internal transcribed spacer, wewnętrzne sekwencje transkrybowane) charakteryzujące się większą zmiennością międzygatunkową (ryc. 1).

KOMPOZYCJA MYKOBIIOTY PRZEWODU POKARMOWEGO W WARUNKACH FIZJOLOGICZNYCH

Poszczególne części przewodu pokarmowego człowieka skolonizowane są przez inną liczbę i kompozycję grzybów. Z powodu łatwej dostępności oraz przewidywanego dużego znaczenia biologicznego, do najczęściej badanych nisz należy jama ustna (wymaz, ślina lub popłuczyny) oraz dolny odcinek przewodu pokarmowego (kał).

Mykobiota górnego odcinka przewodu pokarmowego

Jama ustna w wyniku kontaktu z niestrawionym pożywieniem oraz szeroko rozumianym środowiskiem zewnętrznym tworzy dynamicznie zmieniające się środowisko dla mikroorganizmów [56]. Wyniki pierwszego badania określającego skład mykobioty jamy ustnej u osób zdrowych opublikowano w 2010 r. [31]. Pirosekwencjonowanie (454) z użyciem primerów ITS1F/ITS2 pozwoliło na zidentyfikowanie 9–23 gatunków grzybów w popłuczynach z jamy ustnej każdej z dwudziestu osób.

Do najczęściej identyfikowanych grzybów należały te z rodzajów *Candida*, *Cladosporium*, *Aureobasidium* i *Aspergillus*, które wykryto u kolejno 75, 65, 50 i 35% badanych [31]. Autorzy badania opisującego mykobiom śliny z wykorzystaniem pirosekwencjonowania 18S ITS1 porównali swoje wyniki z omówionym badaniem i wykazali, że do najczęściej wykrywanych rodzajów grzybów w obu badaniach należały grzyby z rodzajów *Candida*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Fusarium*

i *Aureobasidium* [27]. Przełomem okazało się jednak odkrycie w mykobiomie śliny materiału genetycznego grzybów z rodzaju *Malassezia*, które według badania Dupuy i wsp. są dominującymi ilościowo mikroorganizmami mykobiomu śliny [27]. Niewykrywanie grzybów *Malassezia* spp. we wcześniejszych badaniach tłumaczy się powszechnym stosowaniem żywności pozbawionych lipidów (w badaniach opierających się na hodowlach) albo niedostosowaniem procedur lizy komórek (w badaniach opierających się na sekwencjonowaniu metagenomu) [26, 27].

Mimo że powierzchnia języka, ślina i płytki nazębne pozostają ze sobą w bliskim kontakcie, związane z nimi mikrobiocenozy mogą istotnie różnić się między sobą. Dotąd wielokrotnie potwierdzano tę hipotezę, wskazując na ich odmienny skład bakteryjny [20, 56]. Podobne wnioski wypływają z wyników badania Vesty i wsp., którzy wykazali, że mykobiom płytki nazębnej jest zdominowany przez rodzaj *Candida* (>99% sekwencji), natomiast mykobiom śliny jest bardziej bioróżnorodny (>50% sekwencji przypisywanych do rodzaju *Candida*) [89].

Określenie składu mykobiomu płytki nazębnej wymaga jednak większej liczby badań, ponieważ w materiale genetycznym pozyskanym z naddziąsłowej płytki nazębnej zdrowych dzieci dominowały sekwencje odpowiadające *Candida albicans* (12%), *Naganishia diffluens* (8%), *Rhodotorula mucilaginosa* (8%) oraz *Malassezia globosa* (5%) [29]. Matic-Petrovic i wsp. wykazali, że przestrzeń poddziąsłowa może być rezerwuarem *Candida* spp. u ok. 11% osób zdrowych, u których posiew wymazu z języka nie wskazuje na kolonizację grzybami [59].

Za pomocą metod hodowlanych wykazano, że mykobiota jamy ustnej jest stabilna w okresie przynajmniej 30 tygodni [63]; nie przeprowadzono badań weryfikujących tę obserwację metodami biologii molekularnej.

Zdecydowanie mniej wiadomo o mykobiocie żołądka. Zwolińska-Wcisło i wsp. wykazali występowanie w treści żołądkowej znaczącej liczby komórek grzybów (> 10⁵/ml) u 4,3% osób niechorujących na choroby przewodu pokarmowego [94]. Dokładny skład gatunkowy mykobioty żołądka i jej stabilność u osób zdrowych nie zostały dotąd wiarygodnie zbadane.

Mykobiota dolnego odcinka przewodu pokarmowego

Hallen-Adams i wsp. podsumowali wyniki 37 badań opublikowanych w latach 1917–2016 dotyczących mykobioty dolnego odcinka przewodu pokarmowego u zdrowych dorosłych oraz u dzieci. Najczęściej wykrywanymi grzybami były grzyby z rodzaju *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitanae*), *Sacharomyces* (*S. cerevisiae*), *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Malassezia* (*M. globosa*, *M. restricta*, *M. pachydermatis*), *Cladosporium* (*C. aff. herbarum*), *Galactomyces* (*G. geotrichum*), *Debaryomyces* (*D. hansenii*) oraz *Trichosporon* [37]. Spośród wymienionych grzybów, rodzaj *Candida* wykrywano najczęściej w 86% analizowanych badań. Najczęściej obserwowanym grzybem należącym do rodzaju *Candida* był *C. albicans* (w 70% badań). Po nim najczęściej wykrywanym rodzajem był *Saccharomyces* (w 54% badań) [37]. Wyniki najnowszych badań kohortowych, w których skład mykobioty jelitowej określano na podstawie sekwencjonowania ITS2, potwierdzają, że do najczęstszych grzybów dolnego odcinka przewodu pokarmowego u osób dorosłych należą *S. cerevisiae* (97,6% badanych próbek) i *C. albicans* (73,8% badanych próbek) [55, 68]. Wymienione grzyby można podzielić na autochtoniczne (rezydujące grzyby w przewodzie pokarmowym człowieka) i allochtoniczne (grzyby pochodzenia pokarmowego, niezasiadające przewodu pokarmowego człowieka).

Do grzybów autochtonicznych dolnego odcinka przewodu pokarmowego człowieka prawdopodobnie należą *C. albicans*, *Candida zeylanoides*, *Debaryomyces udonii*, *Geotrichum candidum* i *R. mucilaginosa* [73]. Niemniej, istotną część *C. albicans* w kale może pochodzić z jamy ustnej, na co wskazuje 10–100-krotna redukcja wykrywanych komórek i ponad 3-krotna redukcja liczby kolonii *C. albicans* w kale w wyniku zwiększenia częstotliwości szczotkowania zębów z 1 do 3–4 razy na dobę [7]. Natura grzybów *S. cerevisiae* pozostaje kontrowersyjna. Z kału pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit izolowano szczepy z cechami predysponującymi do kolonizacji jelita człowieka: ograniczonym potencjałem do sporulacji (mniej immunogenne), o dużej zawartości mannozy w ścianie komórkowej (indukuje wytwarzanie przeciwzapalnej interleukiny 10) oraz zdolne do intensywnego metabolizmu alantoiny (dostępne źródło azotu w środowisku zapalnym jelit) [74]. Jednak źródłem grzybów *S. cerevisiae* w kale, najprawdopodobniej innych niż wyżej wspomnianych szczepów, może być również pokarm; wykazano bowiem, że dieta pozbawiona pieczywa, piwa i innych produktów spożywczych, w których produkcji używa się *S. cerevisiae*, istotnie zmniejsza ilość DNA tego grzyba w kale osób zdrowych [7]. Do grzybów allochtonicznych należą najprawdopodobniej *D. hansenii* oraz grzyby z rodzajów *Penicillium* i *Aspergillus*, których obecność w próbkach kału wiąże się ze spożywaniem serów i orzechów [7, 36, 73].

Szczepy grzybów izolowane z kału wykazują cechy przystosowawcze do kolonizacji dolnego odcinka przewodu pokarmowego. W jednym z badań mogły one wzrastać w temperaturze 37°C, prawie 90% z nich było zdolnych

do wzrostu w środowisku z fizjologicznymi stężeniami kwasów żółciowych, a ponad 50% z nich wytwarzało strzępki lub pseudostrzępki umożliwiające przenikanie medium hodowlanego, co można interpretować jako potencjał do adherencji do tkanek gospodarza [83]. Ponadto wśród grzybów izolowanych z próbek kału zdrowych ludzi, szczepy *C. albicans* charakteryzowały się w badaniach *in vitro* (z użyciem linii komórkowej Caco-2) większą zdolnością tworzenia biofilmów, lepszą efektywnością adherencji do komórek nabłonka jelita grubego oraz silniejszą stymulacją wydzielania β -defensyny 2 niż szczepy pozostałych gatunków mykobioty jelitowej [73].

Skład mykobioty dolnego odcinka przewodu pokarmowego człowieka jest mniej stabilny w czasie niż odpowiadający mu skład mikrobioty bakteryjnej; obserwacja ta jest szczególnie prawdziwa w przypadku mykobioty kału ocenianej metodami molekularnymi. Stabilność mykobioty jelita cienkiego w czasie 5–8 miesięcy była oceniana metodami hodowlanymi: po tym czasie w aspiratach z jelit cienkich pięciu zdrowych osób uzyskiwano porównywalny wynik, co autorzy zinterpretowali jako potwierdzenie stabilności [22]. Ze względu na ograniczenia metody, w ten sposób potwierdzono jedynie stabilność występowania i liczby komórek *C. albicans* w jelicie cienkim, nie zaś całej mykobioty.

Więcej badań dotyczy stabilności mykobioty jelita grubego ocenianej przez badanie mykobiomu kału tych samych osób w różnych punktach czasowych. Analiza podobieństwa prążków otrzymanych w trakcie elektroforezy w gradencie czynnika denaturującego (DGGE) ampikonów ITS wykazała podobieństwo kompozycji mykobiomu w ciągu średnio 15 miesięcy [77]. Wyniki badania, którego autorzy zastosowali sekwencjonowanie ITS1, 5,8S i ITS2, podważyły przekonanie o stabilności mykobiomu dolnego odcinka przewodu pokarmowego człowieka, gdyż mniej niż 20% gatunków grzybów było obecnych w próbkach pobranych w odstępie 13–16 tygodni [36]. Roczna stabilność mykobiomu oceniana była w próbkach zebranych w ramach „Human Microbiome Project” – do najczęściej występujących oraz najczęściej możliwych do wykrycia po upływie roku w obu próbkach kału były *S. cerevisiae*, *M. restricta* i *C. albicans* – wykrywano je w obu próbkach u 92, 78 i 64% uczestników badania [68]. Nie opublikowano dotąd badań, które zweryfikowałyby, czy wykrywane w kolejnych punktach czasowych grzyby należące do tych samych gatunków, należą również do tych samych szczepów, co zwiększyłoby wiarygodność doniesień o stabilności mykobioty.

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA SKŁAD MYKOBIOTY

Wyniki badań obserwacyjnych, interwencyjnych i eksperymentalnych wskazują na istnienie czynników istotnie wpływających na skład mykobioty poszczególnych części przewodu pokarmowego. Ze względu na istotne różnice między dziećmi i osobami dorosłymi, czynniki wpływające na skład mykobioty omówiono dla tych grup osobno.

Czynniki wpływające na skład mykobioty u dzieci

Wśród czynników wpływających na skład mykobioty przewodu pokarmowego dzieci wymienia się: wiek dziecka, tydzień ciąży, w którym nastąpił poród, sposób porodu, skład mykobioty skóry i pochwy matki oraz rodzaj przyjmowanego pokarmu. Jakość dowodów potwierdzających te zależności jest jednak niższa w porównaniu do jakości dowodów potwierdzających wpływ wyżej wymienionych czynników na skład mikrobioty bakteryjnej [91]. Większość badań dotyczy kolonizacji przewodu pokarmowego jedynie przez *Candida* spp., dlatego wiedza o dokładnym składzie mykobioty i czynnikach go determinujących u dzieci jest ograniczona.

W ciągu doby po urodzeniu kolonizację jamy ustnej grzybami *Candida* spp. stwierdza się u średnio 9,96% (zakres: 3,0–15,1%) noworodków urodzonych o czasie [1, 4, 18, 46, 75, 86]. Urodzenie drogami natury w porównaniu do cesarskiego cięcia zwykle jest związane z częstszą kolonizacją jamy ustnej noworodka grzybami *Candida* spp. [18, 86], ale nie wszystkie badania potwierdzają tę obserwację [1]. Russel i wsp. w przeprowadzonym badaniu podłużnym obejmującym pięćdziesięcioro niemowląt zaobserwowali trwający do czwartego tygodnia życia gwałtowny wzrost odsetka dzieci, których jama ustna była skolonizowana grzybami *Candida* spp. (u 82% badanych), a następnie powolny spadek tego odsetka trwający do osiągnięcia pierwszego roku życia (u 50% badanych) [75]. W nowszym badaniu obejmującym sto niemowląt odnotowano znacznie mniejszy dynamizm w zmianie liczby niemowląt skolonizowanych *Candida* spp. w jamie ustnej między 8 tygodniem życia (12%) a 12 miesiącem życia (15%) [82]. Ryzyko kolonizacji przewodu pokarmowego niemowlęcia grzybami z rodzaju *Candida* jest większe u wcześniaków; ryzyko to jest odwrotnie proporcjonalne do tygodnia ciąży [2, 45]. Ponadto wśród czynników sprzyjających kolonizacji jamy ustnej grzybami *Candida* spp. u niemowląt wymienia się używanie smoczków [3]. Poza grzybami *Candida* spp. (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. orthopsilosis*), Ward i wsp. w mykobiomie jamy ustnej niemowląt wykazali istotny udział ilościowy *S. cerevisiae* i *Cladosporium velox* [90], jednak brakuje doniesień na temat czynników wpływających na kolonizację tymi grzybami w tej grupie wiekowej.

W mykobiomie jamy ustnej dzieci do drugiego roku życia dominują grzyby z rodzajów *Aspergillus*, *Candida* i *Penicillium* [83]. W pierwszych miesiącach życia ryzyko kolonizacji jamy ustnej grzybami z rodzaju *Candida* jest determinowane rodzajem pokarmu przyjmowanego przez dziecko; u badanych niemowląt, w wieku do 5–6 miesięcy, karmionych piersią istotnie rzadziej izolowano z jamy ustnej *Candida* spp. niż u karmionych wyłącznie sztucznym pokarmem (34–35% vs 51–67%) [3, 93]. Nie tylko obecność mleka matki w diecie niemowlęcia, lecz także jego skład wiąże się z modyfikacją ryzyka kolonizacji jamy ustnej grzybami. W mleku zawarte są substancje o potencjale fungistatycznym, wśród których najczęściej wymienia się laktoferynę [5, 67]. W mleku matek noworodków nieskolonizowanych grzybami *Candida* spp. obserwowano istotnie wyższe stężenia lizozymu i dermicydyny [21], natomiast nie wykazano

istotnej różnicy w stężeniu laktoferyny [21, 82]. Jednak mleko matki może być rezerwuarem grzybów. Badanie mykobiomów próbek mleka matek z różnych krajów wykazało istnienie uniwersalnego mykobiomu ludzkiego mleka, na który składają się grzyby z rodzajów *Malassezia*, *Davidiella*, *Sistotrema* i *Penicillium*, co wyjaśnia wykazywanie obecności DNA tych grzybów w materiale biologicznym pobieranym z przewodu pokarmowego niemowląt [12].

W ciągu pierwszych 30 dni życia mykobiom odbyticy charakteryzuje się większą różnorodnością alfa (tj. większą liczbą wykrytych taksonów) oraz większą względną liczbą *C. albicans* w porównaniu do mykobiomu jamy ustnej [90]. Różnorodność alfa mykobiomu jelitowego jest stabilna w ciągu pierwszych 30 dni życia [90] i wykazuje tendencję do wzrostu w pierwszych dwóch lat życia [78] – z powodu dużej zmienności międzyosobniczej trudno o wskazanie konkretnych gatunków grzybów odpowiedzialnych za ten wzrost. Szansa na wykrycie materiału genetycznego grzybów w kale dzieci jest istotnie większa, jeżeli powiodło się wykrycie go w kale matki [78]. Podobnie jak w przypadku jamy ustnej, w pierwszych miesiącach życia obserwuje się wzrost odsetka dzieci, których dolny odcinek przewodu pokarmowego skolonizowany jest przez *Candida* spp. – wykazano, że odsetek skolonizowanych dzieci rośnie raptownie z 3% w 3. dniu życia, poprzez 50% w 6. miesiącu życia, aż do 72% w 18. miesiącu życia, po czym spada do 36% w 36. miesiącu życia [48]. Karmienie dziecka piersią wiąże się z mniejszym ryzykiem kolonizacji dolnego odcinka przewodu pokarmowego przez *Candida* spp. [48]. Ponadto w małym randomizowanym badaniu klinicznym wykazano, że suplementacja średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (MCT) u wcześniaków zmniejsza o 84% liczbę kolonii *Candida* spp. uzyskiwanych z posiewu kału [6]. Nie wykazano różnicy między dziećmi urodzonymi drogami natury a poprzez cesarskie cięcie w częstotliwości kolonizacji dolnego odcinka przewodu pokarmowego grzybami *Candida* spp. [48].

Badanie, w którym kompozycję mykobiomu oceniano przez sekwencjonowanie ITS2, nie wykazało, żeby sposób porodu wpłynął znacząco na podobieństwo kompozycji mykobioty przewodu pokarmowego dziecka i mykobioty pochwy matki [90], co sugeruje niewertykalną drogę grzybiczej kolonizacji przewodu pokarmowego człowieka. Udział wertykalnej i niewertykalnej drogi kolonizacji przewodu pokarmowego noworodka nie został nadal jednoznacznie określony. Wykazano, że kolonizacja pochwy przez grzyby z rodzaju *Candida* jest związana z wyższym ryzykiem kolonizacji jamy ustnej i odbyticy urodzonego drogą natury noworodka przez grzyby *Candida* [1, 30]. Wśród par skolonizowanych *C. albicans* matek i ich noworodków, podobieństwo szczepów *C. albicans* wyizolowanych ze śluzówki pochwy matki i odbyticy noworodka do 3. dnia życia lub jamy ustnej noworodka do 9. dnia życia wykazano u 100% par [18, 30]. Jednak odsetek ten był znacznie niższy, jeżeli do analizy włączano szczepy *C. albicans* wyizolowane z odbytu lub pachwin noworodka lub szczepy innych gatunków grzybów [11, 18]. Wydaje się zatem, że przewód pokarmowy człowieka kolonizowany jest wertykalnie przez *C. albicans* i niewertykalnie przez pozostałe gatunki grzybów.

Czynniki wpływające na skład mykrobioty u dorosłych

Do najczęściej wymienianych czynników u osób dorosłych należą: wiek, płeć, dieta oraz szybkość wydzielania i skład śliny.

Skład mykrobiomu zarówno jamy ustnej, jak i kału zmienia się wraz z wiekiem człowieka. U zdrowych osób dorosłych z wiekiem obserwuje się zwiększenie ryzyka kolonizacji jamy ustnej grzybami *Candida* spp. [85]. U młodych dorosłych (wiek 19–25 lat i 16–39 lat) kolonizację *Candida* spp. stwierdzono odpowiednio u 28,3 i 29,9% [80, 85]. U młodych dorosłych wykazano istotny związek między porodem drogami natury a częstszą kolonizacją (42% vs 26%) jamy ustnej oraz większą liczbą kolonii grzybów (średnio 13,7 vs 1,7 log CFU/ml) w porównaniu do rówieśników urodzonych przez cesarskie cięcie [17]. U osób w wieku średnim (26–45 i 40–59 lat) obserwowano częstszą kolonizację *Candida* spp. (30,4 i 49,3%) [80, 85]. Jednak znacznie częstszą kolonizację odnotowuje się u osób powyżej 60. roku życia (Polacy \geq 66 r.ż.: 52% badanych; Japończycy \geq 60 r.ż.: 61–64% badanych) [34, 76, 85]. Starszy wiek wiązany bywa nie tylko z częstszą kolonizacją, lecz także większą liczbą uzyskiwanych kolonii *Candida* spp., jednak badań potwierdzających tę obserwację jest znacznie mniej [80]. Wśród czynników wpływających na zwiększenie liczby grzybów z rodzaju *Candida* w jamie ustnej u osób w podeszłym wieku wymienia się stosowanie protez zębowych, gorszą higienę jamy ustnej, niski przepływ śliny, obecność chorób przewlekłych i przyjmowanie niektórych leków [76].

Badania dotyczące wpływu śliny na mykrobiotę jamy ustnej są ograniczone do analizy jej wpływu na kolonizację przez *Candida* spp. Uważa się, że zmiany zachodzące w składzie śliny i zmniejszenie szybkości jej wydzielania w wyniku procesu starzenia się predysponują do nosicielstwa *Candida* spp. [69, 87].

Wraz z wiekiem człowieka maleje nie tylko wspomniana wyżej szybkość przepływu śliny, lecz także stężenia substancji o potencjale przeciwdrobnoustrojowym, w tym transferyny, laktoferyny i wydzielniczej immunoglobuliny A (sIgA) [44, 61, 87]. Ponadto rozpoznawanie kolonizacji przez *C. albicans* – a nie inne gatunki *Candida* – może być następstwem swoistych gatunkowo właściwości fungistatycznych wydzieliny ślinianki przyusznej człowieka; są one wielokrotnie wyższe dla różnych szczepów gatunków *C. glabrata*, *C. neoformans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. kefyr* niż dla szczepów *C. albicans* [39]. U osób zdrowych zaobserwowano niezależny od wieku i płci związek między wyższym stężeniem miedzi a zwiększoną liczbą *C. albicans* w ślinie [69].

Wnioski z badań związku między płcią a składem mykrobioty przewodu pokarmowego są niespójne. Z jednej strony z próbek kału kobiet izoluje się większą liczbę

gatunków grzybów niż z próbek kału mężczyzn [13, 83]. Z drugiej strony w badaniach, w których skład mykrobioty jelitowej określano na podstawie sekwencjonowania ITS2, nie potwierdzono jednak związku między płcią o kompozycją mykrobiomu dolnego odcinka przewodu pokarmowego [55, 68].

Dieta, zwłaszcza jej krótkoterminowy skład, wpływa na skład mykrobioty przewodu pokarmowego człowieka, co wykazano zarówno w obserwacyjnych i interwencyjnych badaniach. Wśród studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wyższy odsetek kolonizacji jamy ustnej przez grzyby *Candida* spp. obserwowano u osób słodzących ciepłe napoje, takie jak kawa i herbata (79 vs 61%, $p = 0,004$) oraz u osób przekraczających wskazane dzienne spożycie cukrów (76 vs 69%, $p < 0,02$) [32].

Hoffmann i wsp. zaobserwowali dodatnią korelację między ilością spożytych węglowodanów w ciągu ostatnich trzech dni a udziałem *Candida* w mykrobiomie jelit. Natomiast ilość spożytych nasyconych kwasów tłuszczowych ujemnie korelowała z udziałem *Candida*, a ilość spożytych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych ujemnie z *Aspergillus* [40]. Ocena jakościowa kompozycji mykrobioty przewodu pokarmowego laktoowovegetarian w porównaniu do osób na tzw. diecie zachodniej wykazała częstszą obecność grzybów znanych jako zanieczyszczających roślinne produkty spożywcze, takich jak *Fusarium graminearum* (wykrywane u 88% badanych) czy *Aspergillus niger* (u 68% badanych). Ponadto u vegetarian częściej izolowano materiał genetyczny należący do grzybów z rodzaju *Malassezia* (u 81% vegetarian i 12% osób na diecie zachodniej) i *Penicillium* (u 75% vegetarian i 1% osób na diecie zachodniej), a rzadziej z rodziny *Dipodascaceae* w porównaniu do próbek pochodzących od osób na diecie zachodniej [36, 84].

W przeprowadzonym w Polsce badaniu obserwacyjnym częste spożywanie twarogu lub produktów pełnoziarnistych było związane z częściej uzyskiwanym negatywnym wynikiem posiewu wymazu z jamy ustnej lub kału w kierunku *Candida* spp. [43]. Natomiast w badaniu interwencyjnym wykazano, że pięciodniowa dieta oparta na produktach odzwierzęcych (skomponowana jedynie z mięsa, jaj i serów) powoduje wzrost liczby kolonii grzybów uzyskiwanych z posiewu kału; wynika to głównie ze wzrostu liczby grzybów z rodzaju *Penicillium* [24]. W badaniach interwencyjnych wykazano zmniejszenie liczby grzybów z rodzaju *Candida* i *Penicillium* w wyniku spożycia migdałów i pistacji [37, 88].

Przyjmowanie antybiotyków jest związane z większym ryzykiem kolonizacji przewodu pokarmowego przez grzyby oraz rozwinięcia infekcji grzybiczych, co tłumaczy się usunięciem bakterii konkurujących o substancje odżywcze lub wydzielających substancje przeciwgrzybicze [8]. Wyjątkiem jest ryfaksymina; nie wykazano, żeby jej przyjmowanie powodowało wzrost częstości kolonizacji przewodu pokarmowego przez *Candida* spp. [15, 72].

INTERAKCJE MIĘDZY GRZYBAMI I BAKTERIAMI ZASIEDLAJĄCYMI PRZEWÓD POKARMOWY

Z powodu dzielenia wspólnych ontosfer, bakterie i grzyby zasiedlające poszczególne części przewodu pokarmowego człowieka podejrzewa się o wzajemne oddziaływanie na siebie.

W jamie ustnej, większość badań dotyczy interakcji między *C. albicans* a paciorkowcami. Wykazano, że adhezyny na powierzchni paciorkowców grupy mitis – zwłaszcza *Streptococcus gordonii*, *S. oralis* i *S. sanguinis* – umożliwiają im wiązanie się z powierzchnią *C. albicans* i utworzenie biofilmów [49]. Paciorkowce grupy mitis promują tworzenie strzępek prawdziwych przez *C. albicans*, co umożliwia penetrację tkanki i wywołanie stanu zapalnego.

Jako że występowanie próchnicy wiąże się z ponadpięciokrotnie wyższym ryzykiem kolonizacji *C. albicans* jamy ustnej u dzieci i ponadtrzykrotnie wyższym u osób dorosłych [25, 92], duże zainteresowanie budzi odkrycie mechanizmów synergizmu między próchnicotwórczymi bakteriami, zwłaszcza *Streptococcus mutans*, a *C. albicans*. Wykazano, że egzoenzym wytwarzany przez *S. mutans* odpowiedzialny za przemianę sacharozy do egzopolisacharydów umożliwiających adhezję bakterii do płytki nazębnej – glikozylotransferaza B – wiąże się z powierzchnią *C. albicans* i promuje rozrost grzyba przez rozkładanie sacharozy do łatwiej wykorzystywanych przez *C. albicans* glukozy i fruktozy [28]. Rozrost *C. albicans* wspiera rozrost *S. mutans* przez:

- wydzielanie farnesolu w stężeniu promującym wzrost *S. mutans*;
- wydzielanie kwasu mlekowego i mrówkowego obniżających pH środowiska do korzystnego dla rozrostu *S. mutans*;
- syntezę egzopolisacharydów zwiększających biomasę biofilmu [28, 49].

Jednoczesne badanie metagenomu bakteryjnego i grzybiczego jest źródłem wiedzy o wymagających mechanistycznego potwierdzenia interakcjach między grzybami a bakteriami. Kraneveld i wsp. wykazali, że u osób, u których stwierdzono dużą różnorodność mikrobiomu bakteryjnego śliny, jednocześnie obserwowano względnie niski udział *Candida* spp. w mikrobiomie [51]. W badaniu mikrobiomu jamy ustnej osób zdrowych odnotowano 15 korelacji między względnymi liczebnościami grzybów i bakterii, wśród których aż 13 było korelacjami dodatnimi, m.in. względna liczebność *Cladosporium* spp. korelowała z liczebnością bakterii *Capnocytophaga* spp. i *Rothia* spp., a względna liczebność *Epicoccum* spp. z liczebnością bakterii *Pasteurella* spp. i *Granulicatella* spp. [64]. Nie udało się wykazać tych samych korelacji w mikrobiomie jamy ustnej osób zakażonych HIV; odnotowano u nich 12 innych korelacji pomiędzy względnymi liczebnościami grzybów i bakterii, a jedyną ujemną korelację wykazano pomiędzy liczbą *Candida* spp. a liczbą *Campylobacter* spp. ($\rho = -0,67$, $p = 0,023$) [64].

Również w mikrobiomie jelitowym stwierdzono liczne różnice w względnej liczebności określonych rodzajów bakterii w zależności od kolonizacji określonym gatunkiem grzyba. Obecność *C. tropicalis* wiązała się z większą względną liczebnością *Bacteroides* spp. i mniejszą *Eubacterium* spp. [36]. Obecność *Malassezia* spp. wiązała się z większą względną liczebnością *Oscillibacter* spp. i *Ruminococcus* spp., a mniejszą *Haemophilus* spp. [36]. Seddik i wsp. opisali zdolność 2 spośród 19 wyizolowanych z próbek kału algierskich dzieci szczepów *Candida* spp. – *C. parapsilosis* P48L1 i *C. albicans* P51L1 – do hamowania wzrostu patogenów bakteryjnych (*Escherichia coli* ATCC 25922 i *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) [79], co potwierdza potencjał mykobioty dolnego odcinka przewodu pokarmowego do wpływu na bakterie zasiedlające tę ontosferę.

ZMIANY MYKOBIOTY PRZEWODU POKARMOWEGO W STANACH PATOLOGICZNYCH

W tabelach 1 i 2 podsumowano różnice w składzie mykobioty górnego i dolnego odcinka przewodu pokarmowego. Większość stanów patologicznych powiązano ze zmniejszeniem różnorodności alfa mykobiomu ocenianej wskaźnikiem Shannona-Wienera (liszaj płaski jamy ustnej, rak płaskonabłonkowy jamy ustnej, otyłość), jednak w przypadku mykobiomu tkanki zmienionej zapalnie w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna odnotowano wzrost wspomnianego wskaźnika [53]. U pacjentów obciążonych większością zestawionych w tabelach chorób obserwowano częstszą kolonizację przewodu pokarmowego przez *Candida* spp. lub większą liczbę ich kolonii w posiewie.

U dorosłych pacjentów z otyłością nie zaobserwowano istotnej różnicy w relatywnej ilości *Candida* spp. w mykobiomie dolnego odcinka przewodu pokarmowego, natomiast u dzieci chorujących na otyłość odnotowano obniżenie liczby *Candida* spp. w stosunku do dzieci zdrowych [14, 58]. Co ważne, w otyłości i związanym z nią wyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym, istotną rolę wydaje się odgrywać zmniejszony udział *Mucor* spp. (zwłaszcza *M. racemosus*) w mykobiocie dolnego odcinka przewodu pokarmowego, co sugerują wyniki badań przeprowadzonych przez dwie niezależne grupy naukowców [19, 58]. Nie określono dotąd wpływu zaburzeń składu mykobioty na przebieg wymienionych chorób.

Należy zaznaczyć, że obserwowane w stanach patologicznych zmiany mykobioty przewodu pokarmowego mogą mieć charakter wtórny do zmian metabolicznych i immunologicznych towarzyszących chorobom. Wtórny charakter zwiększonej liczby *Candida* spp. do stanu zapalnego towarzyszącego chorobie Leśniowskiego-Crohna wykazali Kowalska-Duplaga i wsp.; w kale dzieci z aktywną postacią choroby stwierdzano istotnie większą liczbę *Candida* spp. niż u dzieci zdrowych, a liczba ta uległa normalizacji w wyniku leczenia infliksimabem (lek biologiczny skierowany przeciwko ludzkiemu czynnikowi martwicy nowotworów TNF- α) [50].

Tabela 1. Zmiany mykrobioty górnego odcinka przewodu pokarmowego człowieka w stanach patologicznych

Choroba	Obserwowane różnice w porównaniu do osób zdrowych	Materiał i metody	Ref.
Cukrzyca typu 2	↑ częstotliwość wykrywania <i>Candida</i> spp. [9, 26, 60]	Materiał: wymaz z jamy ustnej [62], popłuczyny z jamy ustnej [10], ślina [9]	
	Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy częstotliwością występowania poszczególnych gatunków <i>Candida</i> [9, 26]	Hodowla: podłoże Sabourauda [9, 10, 59, 62]	
	Częstotliwość kolonizacji <i>Candida</i> spp. odwrotnie proporcjonalna do adekwatności kontroli glikemii (HbA1c) [10, 60]	Identyfikacja: CHROMagar <i>Candida</i> [9, 10, 62], a dodatkowo:	[9, 10, 59, 62]
	↑ liczby kolonii (CFU/ml) u chorych z źle kontrolowaną glikemią w porównaniu do chorych z glikemią umiarkowanie kontrolowaną, dobrze kontrolowaną oraz osób zdrowych [9, 10]	– analiza RFLP (restriction fragment length polymorphism, polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych) [62], – test filamentowania i płytek Dalmau [10], – testy biochemiczne i test filamentowania [9, 59]	
	↑ oporności <i>C. albicans</i> na flukonazol u osób z cukrzycą w porównaniu do osób zdrowych (p = 0,001) [10]	Antybiotykooporność: metoda krążków dyfuzyjnych [10]	
Liszaj płaski jamy ustnej	↑ Ascomycota (68–70% sekwencji u chorych, 59% u zdrowych, p < 0,05) ↓ Basidiomycota (7–13% sekwencji u chorych, 16% u zdrowych, p < 0,05)		
	Relatywna ilość <i>Bovista</i> spp. korelowała zarówno z zaawansowaniem klinicznym choroby i stężeniem interleukiny 17 w ślinie	Materiał: ślina	
	U pacjentów z nadzerkową postacią liszaja obserwowano: – ↓ alfa różnorodność (wskaźnik Shannona-Wienera), – ↓ estymowanej liczby taksonów (wskaźnik Chao1), – ↓ <i>Trichosporon</i> spp.	Identyfikacja: sekwencjonowanie regionu ITS2 (Illumina MiSeq)	[54]
	U pacjentów z siateczkową postacią liszaja obserwowano: – ↑ <i>Candida</i> spp., ↑ <i>Aspergillus</i> spp.		
Łuszczyca	częstsze występowanie <i>Candida</i> spp. u chorych (46,4%) niż u zdrowych (21,6%)	Metaanaliza Materiały: ślina, wymaz z języka, wymaz z niezmienionej chorobowo j. ustnej, popłuczyny z j. ustnej	[71]
Rak płaskonabłonkowy jamy ustnej	↓ alfa różnorodność (wskaźnik Shannona-Wienera) ↓ estymowanej liczby taksonów (wskaźnik Chao1) Istotne różnice w procentowym udziale rodzajów w mykrobiomie tkanki: ↑ <i>Candida</i> spp., <i>Hannaella</i> spp. i <i>Gibberella</i> spp., ↓ <i>Trametes</i> spp. i <i>Alternaria</i> spp. Istotne różnice w procentowym udziale gatunków w mykrobiomie tkanki: ↑ <i>C. albicans</i> (61,2% vs. 29,6% sekwencji) ↑ <i>C. etchellii</i> (0,006–2,56% vs 0,007–0,12% sekwencji) ↓ <i>M. restricta</i> , <i>Aspergillus tamarii</i> , <i>Cladosporium halotolerans</i> , <i>Alternaria alternata</i> i <i>Malassezia furfur</i>	Materiał: biopsja zmiany policzka lub języka Identyfikacja: sekwencjonowanie regionu ITS2 (Illumina MiSeq)	[70]
Rak płaskonabłonkowy języka	Tkanka nowotworowa w porównaniu do tkanki nienowotworowej: ↓ liczba sekwencji należących do grzybów (p = 0,005) ↓ estymowanej liczby taksonów (wskaźnik Chao1), ale nie alfa różnorodność ↓ <i>Glomeromycota</i> (2,2% vs. 2,7%, p = 0,01)	Materiał: wycięty nowotwór wraz z otaczającą go zdrową tkanką Identyfikacja: sekwencjonowanie regionu ITS1 (Ion Personal Genome Machine)	[65]
Zespół Sjögrena	Zarówno pierwotny i wtórny zespół Sjögrena związany był z: ↓ różnorodnością grzybów (b.d.) ↑ liczba (CFU/ml) wszystkich grzybów (p < 0,04) i <i>C. albicans</i> (p < 0,01)	Materiał: wymaz z grzbietu języka Hodowla: BBL CHROMagar™ <i>Candida</i> Medium Identyfikacja: morfologia kolonii, ABI-Prism 3500 Genetic Analyzer	[60]

Choroba	Obserwowane różnice w porównaniu do osób zdrowych	Materiał i metody	Ref.
Choroba wrzodowa żołądka	<p>↑ częstotliwość wykrywania istotnej liczby grzybów ($\geq 10^5$ komórek/ml) w porównaniu do osób z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej żołądka i osób bez chorób przewodu pokarmowego – istotną kolonizację stwierdzono u 54%, 10% i 4% badanych</p> <p>↑ średnica wrzodu u pacjentów z istotną liczbą grzybów ($\geq 10^5$ komórek/ml)</p> <p>↓ odpowiedź na leczenie choroby wrzodowej u pacjentów z dużą liczbą grzybów</p> <p>Pacjenci z istotną liczbą komórek grzybów częściej odczuwali ból w nadbrzuszu i uskarżali się na utratę masy ciała niż pozostali pacjenci</p>	<p>Materiał: treść żołądkowa, wymaz szczoteczkowy zmienionej zapalnie śluzówki żołądka, bioptat zmienionej zapalenia śluzówki żołądka</p> <p>Hodowla: podłoże Sabourauda</p> <p>Identyfikacja: API 20C AUX</p>	94]
Zanikowe zapalenie języka	<p>↑ liczba (CFU) <i>C. albicans</i></p> <p>↓ liczba (CFU) <i>C. glabrata</i></p>	<p>Materiał: wymaz z grzbietu języka</p> <p>Hodowla i identyfikacja: CHROMagar™ Candida selective plates</p>	66]
b.d. – brak danych			

Tabela 2. Zmiany mykobioty dolnego odcinka przewodu pokarmowego człowieka w stanach patologicznych

Choroba	Obserwowane różnice względem osób zdrowych	Metoda badania	Ref.
Otyłość	<p>↓ alfa różnorodność (wskaźnik Shannona-Wienera) na poziomie rodzin</p> <p>Tendencja do zmniejszonej bioróżnorodności na poziomie typów, klas i rodzajów. Różnica w częstotliwości wykrywania:</p> <p>– ↓ <i>Zygomycota</i> ($p = 0,031$);</p> <p>– ↑ <i>Tremellomycetes</i> ($p = 0,028$),</p> <p>– ↓ <i>Agaricomycetes</i> ($p = 0,017$);</p> <p>– ↓ <i>Mucor</i> (b.d.).</p> <p>U osób, w których kale wykrywano <i>Mucor</i> spp., otyłość wiązała się ze zmniejszoną liczbą <i>M. racemosus</i> i <i>M. fuscus</i> w kale. Paralelnie do spadku masy ciała w trakcie diety rosła liczba <i>Mucor</i> spp.</p>	<p>Materiał: kał</p> <p>Identyfikacja: Pirosekwencjonowanie (454) całego ITS oraz qPCR ITS2 z użyciem primerów charakterystycznych dla <i>Mucor</i> spp.</p>	[58]
Otyłość i nadwaga (dorośli)	<p>↓ liczba (\log_{10} CFU/g) grzybów strzępkowych w otyłości ($p < 0,05$)</p> <p>Jedynie u osób otyłych wykrywano <i>Chaetomium</i> sp. i <i>Candida krusei</i></p> <p>Ilość spożywanego węglowodanów korelowała dodatnio z ilością grzybów strzępkowych u osób z nadwagą ($r = 0,534$)</p>	<p>Materiał: kał</p> <p>Hodowla: podłoże Sabourauda</p> <p>Identyfikacja mikroskopowa oraz z użyciem MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, spektrometr mas z laserową desorpcją/ionizacją próbki wspomagana matrycą oraz z analizatorem czasu przelotu) i sekwencjonowania 18S rDNA</p>	[13]
Bakteryjne zapalenie rogówki	<p>Na poziomie gromad:</p> <p>↓ <i>Glomeromycota</i>, <i>Chytridiomycota</i>, <i>Zygomycota</i></p> <p>Na poziomie rodzajów:</p> <p>↓ <i>Mortierella</i>, <i>Rhizopus</i>, <i>Kluyveromyces</i>, <i>Embellisia</i>, <i>Haematonectria</i></p> <p>↑ <i>Aspergillus</i>, <i>Malassezia</i></p>	<p>Materiał: kał</p> <p>Sekwencjonowanie ITS2 (Illumina MiSeq)</p>	[42]
Miażdżyca	<p>Średnia grubość kompleksu intima-media w tętnicach szyjnych korelowała negatywnie z udziałem procentowym w mykrobiomie:</p> <p>– gromady <i>Zygomycota</i> ($r = -0,43$, $p = 0,013$),</p> <p>– rodziny <i>Mucoraceae</i> ($r = -0,44$, $p = 0,01$),</p> <p>– rodzajów <i>Mucor</i> spp. i <i>Kazachstania</i> spp. ($r = -0,43$, $p = 0,01$),</p> <p>– gatunku <i>M. racemosus</i> ($r = -0,38$, $p = 0,027$).</p> <p>Obecność <i>Mucor</i> spp. w kale lepiej różnicowało osoby z wyższym i niższym ryzykiem sercowo-naczyniowym niż rozpoznanie otyłości.</p>	<p>Materiał: biopsja zmiany policzka lub języka</p> <p>Identyfikacja: sekwencjonowanie regionu ITS2 (Illumina MiSeq)</p>	[19]

Choroba	Obserwowane różnice względem osób zdrowych	Metoda badania	Ref.
Cukrzyca typu 1	↑ liczba (CFU/g) <i>Candida</i> spp. (p = 0,017)	Materiał: kał Identyfikacja: qPCR 18S rRNA z użyciem primerów charakterystycznych dla <i>Candida</i> spp	[33]
Cukrzyca typu 2	↑ liczba (CFU/g) <i>Candida</i> spp. (p = 0,037) Liczba <i>Candida</i> spp. w grupie osób z cukrzycą typu 2 silnie korelowała negatywnie ze stężeniami cholesterolu (HDL, LDL i całkowitego) i trójglicerydów	Materiał: kał Identyfikacja: qPCR 18S rRNA z użyciem primerów charakterystycznych dla <i>Candida</i> spp.	[33]
Łuszczycza	↑ częstotliwość kolonizacji <i>Candida</i> spp. u chorych (68%) niż zdrowych (50%) [71] ↑ częstotliwość kolonizacji <i>Geotrichum candidum</i> u chorych (22%) niż u zdrowych (3%) [16]	Meta-analiza Materiał: kał	[16, 71]
Rak jelita grubego	14 grzybów, których względna ilość była przynajmniej dwukrotnie wyższa lub niższa niż w grupie kontrolnej (m.in. <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus rambellii</i> , <i>Debaryomyces fabryi</i> , <i>Malassezia globosa</i> , <i>Pneumocystis murina</i>), poprawnie rozróżniają mykrobiom osób z nowotworem od mykobiomu osób zdrowych z polem pod krzywą ROC wynoszącym 0,93 w próbie testowej oraz 0,82 i 0,74 w dwóch próbach walidacyjnych. ↑ stosunku <i>Basidiomycota:Ascomycota</i> (p = 0,0042) ↓ <i>Lipomycetaceae</i> ↑ <i>Pisolithaceae</i> , <i>Marasmiaceae</i> , <i>Malasseziaceae</i> , <i>Erysiphaceae</i> , <i>Pseudorotiaceae</i> , <i>Chaetomiceae</i> ↑ <i>Malassezia</i> spp., <i>Moniliophthora</i> spp., <i>Rhodotorula</i> spp., <i>Acremonium</i> spp., <i>Thielaviopsis</i> spp., <i>Pisolithus</i> spp.	Materiał: kał Identyfikacja: sekwencjonowanie całego metagenomu metodą „shotgut” (Illumina HiSeq)	[23]
Choroba Crohna	↑ częstotliwość kolonizacji <i>Candida</i> spp. u zarówno u chorych, jak i ich krewnych pierwszego stopnia w porównaniu do niespokrewnionych osób zdrowych ↑ częstotliwość kolonizacji <i>C. albicans</i> u zarówno u chorych i ich krewnych pierwszego stopnia w porównaniu do niespokrewnionych osób zdrowych. Nie wykazano różnic w częstotliwości kolonizacji pozostałymi gatunkami <i>Candida</i> spp. pomiędzy grupami	Materiał: kał Hodowla: CHROM agar Identyfikacja: Bichro-Latex-albicans, API 32C system	[81]
	U chorych mykrobiom śluzówki zmienionej zapalnie w porównaniu do śluzówki niezmienionej charakteryzował się: ↑ liczba gatunków ↑ alfa różnorodność (wskaźnik Shannona-Wienera) ↑ <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>Gibberella moniliformis</i> , <i>Alternaria brassicicola</i> i <i>Cryptococcus neoformans</i> ↓ <i>S. cerevisiae</i> i <i>Saccharomyces castellii</i> Wskaźniki alfa różnorodności mykobiomu śluzówki pozytywnie korelowały z ekspresją w śluzówce prozapalnych TNF-α i IFN-γ, a ujemnie z ekspresją przeciwzapalnej IL-10. Mykrobiom kału osób chorych w porównaniu do osób zdrowych: ↑ alfa różnorodność (wskaźnik Shannona-Wienera). ↑ <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>C. neoformans</i> ↓ <i>S. cerevisiae</i> Wskaźniki alfa różnorodności mykobiomu korelowały pozytywnie z wskaźnikiem aktywności klinicznej choroby Crohna (CDAI)	Materiał: śluzówka jelita krętego i kał Identyfikacja: sekwencjonowanie 18S rRNA	[53]
Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Brak istotnych różnic w zakresie wskaźników różnorodności alfa i beta ↑ <i>C. albicans</i> , <i>Debaryomyces</i> sp. ↓ <i>Alternaria alternata</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Aspergillus cibarius</i> , <i>Candida sojae</i>	Materiał: kał Identyfikacja: Sekwencjonowanie ITS2 (Illumina MiSeq)	[57]

Podziękowania

Dziękujemy Maciejowi Lubiejewskiemu za wkład w początkowy etap powstawania pracy.

PIŚMIENICTWO

- [1] Al-Rusan R.M., Darwazeh A.M., Lataifeh I.M.: The relationship of Candida colonization of the oral and vaginal mucosae of mothers and oral mucosae of their newborns at birth. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2017; 123: 459–463
- [2] Ali G.Y., Alghohary E.H., Rashed K.A., Almoghanum M., Khalifa A.A.: Prevalence of Candida colonization in preterm newborns and VLBW in neonatal intensive care unit: Role of maternal colonization as a risk factor in transmission of disease. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 2012; 25: 789–795
- [3] Amadio J.V., Hahn R.C.: Prevalence of Candida spp in the oral cavity of infants receiving artificial feeding and breastfeeding and the breasts of nursing mothers. *J. Pediatr. Infect. Dis.*, 2011; 6: 231–236
- [4] Anderson N.A., Sage D.N., Spaulding E.H.: Oral moniliasis in newborn infants. *Am. J. Dis. Child.*, 1944; 67: 450
- [5] Andersson Y., Lindquist S., Lagerqvist C., Hernell O.: Lactoferrin is responsible for the fungistatic effect of human milk. *Early Hum. Dev.*, 2000; 59: 95–105
- [6] Arsenault A.B., Gunsalus K.T., Laforce-Nesbitt S.S., Przystac L., DeAngelis E.J., Hurley M.E., Vorel E.S., Tucker R., Matthan N.R., Lichtenstein A.H., Kumamoto C.A., Bliss J.M.: Dietary supplementation with medium-chain triglycerides reduces Candida gastrointestinal colonization in preterm infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2019; 38: 164–168
- [7] Auchtung T.A., Fofanova T.Y., Stewart C.J., Nash A.K., Wong M.C., Gesell J.R., Auchtung J.M., Ajami N.J., Petrosino J.F.: Investigating colonization of the healthy adult gastrointestinal tract by fungi. *mSphere*, 2018; 3: e00092–18
- [8] Azevedo M.M., Teixeira-Santos R., Silva A.P., Cruz L., Ricardo E., Pina-Vaz C., Rodrigues A.G.: The effect of antibacterial and non-antibacterial compounds alone or associated with antifungals upon fungi. *Front. Microbiol.*, 2015; 6: 669
- [9] Benedetti V.P., Savi D.C., Aluizio R., Adamoski D., Kava-Cordeiro V., Galli-Terasawa L.V., Glienke C.: Analysis of the genetic diversity of Candida isolates obtained from diabetic patients and kidney transplant recipients. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2016; 111: 417–422
- [10] Bhuyan L., Hassan S., Dash K.C., Panda A., Behura S.S., Ramachandra S.: Candida species diversity in oral cavity of type 2 diabetic patients and their in vitro antifungal susceptibility. *Contemp. Clin. Dent.*, 2018; 9: S83–S88
- [11] Bliss J.M., Basavegowda K.P., Watson W.J., Sheikh A.U., Ryan R.M.: Vertical and horizontal transmission of Candida albicans in very low birth weight infants using DNA fingerprinting techniques. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2008; 27: 231–235
- [12] Boix-Amorós A., Puente-Sánchez F., du Toit E., Linderborg K.M., Zhang Y., Yang B., Salminen S., Isolauri E., Tamames J., Mira A., Collado M.C.: Mycobiome profiles in breast milk from healthy women depend on mode of delivery, geographic location, and interaction with bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2019; 85: e02994–18
- [13] Borges F.M., de Paula T.O., Sarmiento M.R., de Oliveira M.G., Pereira M.L., Toledo I.V., Nascimento T.C., Ferreira-Machado A.B., Silva V.L., Diniz C.G.: Fungal diversity of human gut microbiota among eutrophic, overweight, and obese individuals based on aerobic culture-dependent approach. *Curr. Microbiol.*, 2018; 75: 726–735
- [14] Borgo F., Verduci E., Riva A., Lassandro C., Riva E., Morace G., Borghi E.: Relative abundance in bacterial and fungal gut microbes in obese children: A case control study. *Child. Obes.*, 2017; 13: 78–84
- [15] Brigidi P., Swennen E., Rizzello F., Bozzolascio M., Matteuzzi D.: Effects of rifaximin administration on the intestinal microbiota in patients with ulcerative colitis. *J. Chemother.*, 2002; 14: 290–295
- [16] Buslau M., Menzel I., Holzmann H.: Fungal flora of human faeces in psoriasis and atopic dermatitis. *Mycoses*, 1990; 33: 90–94
- [17] Campos P., Costa L., Ferreira M., Fernandes C., Ferreira S., Moreira I., Moreira R., Pereira M., Sampaio-Maia B.: Is the oral mycobiome of young adults influenced by the delivery mode? *Porto Biomed. J.*, 2017; 2: 186–187
- [18] Caramalac D.A., da Silva Ruiz L., de Batista G.C., Birman E.G., Duarte M., Hahn R., Paula C.R.: Candida isolated from vaginal mucosa of mothers and oral mucosa of neonates: Occurrence and biotypes concordance. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2007; 26: 553–557
- [19] Chacón M.R., Lozano-Bartolomé J., Portero-Otín M., Rodríguez M.M., Xifra G., Puig J., Blasco G., Ricart W., Chaves F.J., Fernández-Real J.M.: The gut mycobiome composition is linked to carotid atherosclerosis. *Benef. Microbes*, 2018; 9: 185–198
- [20] Chałas R., Wójcik-Chęcińska I., Woźniak M.J., Grzonka J., Świączkowski W., Kurzydowski K.J.: Płytką bakteryjną jako biofilm – zagrożenia w jamie ustnej oraz sposoby zapobiegania. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2015; 69: 1140–1148
- [21] Chow B.D., Reardon J.L., Perry E.O., Laforce-Nesbitt S.S., Tucker R., Bliss J.M.: Host defense proteins in breast milk and neonatal yeast colonization. *J. Hum. Lact.*, 2016; 32: 168–173
- [22] Cohen R., Roth F.J., Delgado E., Ahearn D.G., Kalsner M.H.: Fungal flora of the normal human small and large intestine. *N. Engl. J. Med.*, 1969; 280: 638–641
- [23] Coker O.O., Nakatsu G., Dai R.Z., Wu W.K., Wong S.H., Ng S.C., Chan F.K., Sung J.J., Yu J.: Enteric fungal microbiota dysbiosis and ecological alterations in colorectal cancer. *Gut*, 2019; 68: 654–662
- [24] David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N., Gootenberg D.B., Button J.E., Wolfe B.E., Ling A.V., Devlin A.S., Varma Y., Fischbach M.A., Biddinger S.B., Dutton R.J., Turnbaugh P.J.: Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 2014; 505: 559–563
- [25] De-la-Torre J., Marichalar-Mendia X., Varona-Barquin A., Marcos-Arias C., Eraso E., Aguirre-Urizar J.M., Quindós G.: Caries and Candida colonisation in adult patients in Basque Country (Spain). *Mycoses*, 2016; 59: 234–240
- [26] Diaz P.I., Hong B.Y., Dupuy A.K., Strausbaugh L.D.: Mining the oral mycobiome: Methods, components, and meaning. *Virulence*, 2017; 8: 313–323
- [27] Dupuy A.K., David M.S., Li L., Heider T.N., Peterson J.D., Montano E.A., Dongari-Bagtzoglou A., Diaz P.I., Strausbaugh L.D.: Redefining the human oral mycobiome with improved practices in amplicon-based taxonomy: Discovery of Malassezia as a prominent commensal. *PLoS One*, 2014; 9: e90899
- [28] Ellepola K., Truong T., Liu Y., Lin Q., Lim T.K., Lee Y.M., Cao T., Koo H., Seneviratne C.J.: Multi-omics analyses reveal synergistic carbohydrate metabolism in Streptococcus mutans-Candida albicans mixed-species biofilms. *Infect. Immun.*, 2019; 87:e00339–19
- [29] Fechney J.M., Browne G.V., Prabhu N., Irinyi L., Meyer W., Hughes T., Bockmann M., Townsend G., Salehi H., Adler C.J.: Preliminary study of the oral mycobiome of children with and without dental caries. *J. Oral Microbiol.*, 2018; 11: 1536182
- [30] Filippidi A., Galanakis E., Maraki S., Galani I., Drogari-Apiranthitou M., Kalmanti M., Mantadakis E., Samonis G.: The effect of maternal flora on Candida colonisation in the neonate. *Mycoses*, 2014; 57: 43–48
- [31] Ghannoum M.A., Jurevic R.J., Mukherjee P.K., Cui F., Sikaroodi M., Naqvi A., Gillevet P.M.: Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog.*, 2010; 6: e1000713
- [32] Górska K., Klimczak A., Rachubiński P., Jagłowska A., Kwapińska A.: Consumption of sweetened beverages as a risk factor of colonization of oral cavity by fungi – eating habits of university students. *Ann. Parasitol.*, 2015; 61: 175–182
- [33] Gosiewski T., Salamon D., Szopa M., Sroka A., Malecki M.T., Bulanda M.: Quantitative evaluation of fungi of the genus Candida

in the feces of adult patients with type 1 and 2 diabetes – a pilot study. *Gut Pathog.*, 2014; 6: 43

[34] Goto J., Yamazaki Y., Sato J., Hata H., Oouchi M., Moriya S., Kitagawa Y.: Research on carriage of *Candida* species in oral cavities of the home-independent elderly. *Hokkaido J. Dent. Sci.*, 2012; 32: 210–221

[35] Gouba N., Raoult D., Drancourt M.: Eukaryote culturomics of the gut reveals new species. *PLoS One*, 2014; 9: e106994

[36] Hallen-Adams H.E., Kachman S.D., Kim J., Legge R.M., Martínez I.: Fungi inhabiting the healthy human gastrointestinal tract: A diverse and dynamic community. *Fungal Ecol.*, 2015; 15: 9–17

[37] Hallen-Adams H.E., Suhr M.J.: Fungi in the healthy human gastrointestinal tract. *Virulence*, 2017; 8: 352–358

[38] Hamad I., Ranque S., Azhar E.I., Yasir M., Jiman-Fatani A.A., Tissot-Dupont H., Raoult D., Bittar F.: Culturomics and amplicon-based metagenomic approaches for the study of fungal population in human gut microbiota. *Sci. Rep.*, 2017; 7: 16788

[39] Hanasab H., Jammal D., Oppenheim F.G., Helmerhorst E.J.: The antifungal activity of human parotid secretion is species-specific. *Med. Mycol.*, 2011; 49: 218–221

[40] Hoffmann C., Dollive S., Grunberg S., Chen J., Li H., Wu G.D., Lewis J.D., Bushman F.D.: Archaea and fungi of the human gut microbiome: Correlations with diet and bacterial residents. *PLoS One*, 2013; 8: e66019

[41] Huseyin C.E., Rubio R.C., O’Sullivan O., Cotter P.D., Scanlan P.D.: The fungal frontier: A comparative analysis of methods used in the study of the human gut mycobiome. *Front. Microbiol.*, 2017; 8: 1432

[42] Jayasudha R., Chakravarthy S.K., Prashanthi G.S., Sharma S., Garg P., Murthy S.I., Shivaji S.: Alterations in gut bacterial and fungal microbiomes are associated with bacterial keratitis, an inflammatory disease of the human eye. *J. Biosci.*, 2018; 43: 835–856

[43] Jeziorek M., Frej-Mądrzak M., Choroszy-Król I.: The influence of diet on gastrointestinal *Candida* spp. colonization and the susceptibility of *Candida* spp. to antifungal drugs. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.*, 2019; 70: 195–200

[44] Kang J.H., Lee Y.H., Kho H.S.: Clinical factors affecting salivary transferrin level, a marker of blood contamination in salivary analysis. *BMC Oral Health*, 2018; 18: 49

[45] Kaufman D.A., Gurka M.J., Hazen K.C., Boyle R., Robinson M., Grossman L.B.: Patterns of fungal colonization in preterm infants weighing less than 1000 grams at birth. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2006; 25: 733–737

[46] Kaul K.K., Shah P.M., Pohowalla J.N.: Oral moniliasis in the newborn and neonatal morbidity. *Indian J. Pediatr.*, 1960; 27: 115–124

[47] Khatib R., Riederer K.M., Ramanathan J., Baran J.Jr.: Faecal fungal flora in healthy volunteers and inpatients. *Mycoses*, 2001; 44: 151–156

[48] Kondori N., Nowrouzian F., Ajdari M., Hesselmar B., Saalman R., Wold A.E., Adlerberth I.: *Candida* species as commensal gut colonizers: A study of 133 longitudinally followed Swedish infants. *Med. Mycol.*, 2020; 58: 485–492

[49] Koo H., Andes D.R., Krysan D.J.: *Candida*-streptococcal interactions in biofilm-associated oral diseases. *PLoS Pathog.*, 2018; 14: e1007342

[50] Kowalska-Duplaga K., Krawczyk A., Sroka-Oleksiak A., Salamon D., Wędrychowicz A., Fyderek K., Gosiewski T.: Dependence of colonization of the large intestine by *Candida* on the treatment of Crohn’s disease. *Polish J. Microbiol.*, 2019; 68: 121–126

[51] Kraneveld E.A., Buijs M.J., Bonder M.J., Visser M., Keijser B.J., Crielaard W., Zaura E.: The relation between oral *Candida* load and bacterial microbiome profiles in dutch older adults. *PLoS One*, 2012; 7: e42770

[52] Lai G.C., Tan T.G., Pavelka N.: The mammalian mycobiome: A complex system in a dynamic relationship with the host. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.*, 2019; 11: e1438

[53] Li Q., Wang C., Tang C., He Q., Li N., Li J.: Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in Crohn’s disease. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2014; 48: 513–523

[54] Li Y., Wang K., Zhang B., Tu Q., Yao Y., Cui B., Ren B., He J., Shen X., Van Nostrand J.D., Zhou J., Shi W., Xiao L., Lu C., Zhou X.: Salivary mycobiome dysbiosis and its potential impact on bacteriome shifts and host immunity in oral lichen planus. *Int. J. Oral Sci.*, 2019; 11: 13

[55] Mahnic A., Rupnik M.: Different host factors are associated with patterns in bacterial and fungal gut microbiota in Slovenian healthy cohort. *PLoS One*, 2018; 13: e0209209

[56] Malinowska M., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Mikrobiom człowieka. *Post. Mikrobiol.*, 2017; 56: 33–42

[57] Mar J.S., LaMere B.J., Lin D.L., Levan S., Nazareth M., Mahadevan U., Lynch S.V.: Disease severity and immune activity relate to distinct interkingdom gut microbiome states in ethnically distinct ulcerative colitis patients. *mBio*, 2016; 7: e01072–16

[58] Mar Rodríguez M., Pérez D., Javier Chaves F., Esteve E., Marin-García P., Xifra G., Vendrell J., Jové M., Pamplona R., Ricart W., Portero-Otin M., Chacón M.R., Fernández Real J.M.: Obesity changes the human gut mycobiome. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 14600

[59] Matic Petrovic S., Radunovic M., Barac M., Kuzmanovic Pfićer J., Pavlica D., Arsic Arsenijevic V., Pucar A.: Subgingival areas as potential reservoirs of different *Candida* spp in type 2 diabetes patients and healthy subjects. *PLoS One*, 2019; 14: e0210527

[60] Medeiros C.C., dos Anjos Borges L.G., Cherubini K., Salum F.G., Medina da Silva R., de Figueiredo M.A.: Oral yeast colonization in patients with primary and secondary Sjögren’s syndrome. *Oral Dis.*, 2018; 24: 1367–1378

[61] Miletic I.D., Schiffman S.S., Miletic V.D., Sattely-Miller E.A.: Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol. Behav.*, 1996; 60: 243–248

[62] Mohammadi F., Javaheri M.R., Nekoeian S., Dehghan P.: Identification of *Candida* species in the oral cavity of diabetic patients. *Curr. Med. Mycol.*, 2016; 2: 1–7

[63] Monteiro-da-Silva F., Araujo R., Sampaio-Maia B.: Inter-individual variability and intraindividual stability of oral fungal microbiota over time. *Med. Mycol.*, 2014; 52: 498–505

[64] Mukherjee P.K., Chandra J., Retuerto M., Sikaroodi M., Brown R.E., Jurevic R., Salata R.A., Lederman M.M., Gillevet P.M., Ghannoum M.A.: Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: Identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi. *PLoS Pathog.*, 2014; 10: e1003996

[65] Mukherjee P.K., Wang H., Retuerto M., Zhang H., Burkey B., Ghannoum M.A., Eng C.: Bacteriome and mycobiome associations in oral tongue cancer. *Oncotarget*, 2017; 8: 97273–97289

[66] Nakamura S., Okamoto M.R., Yamamoto K., Tsurumoto A., Yoshino Y., Iwabuchi H., Saito I., Maeda N., Nakagawa Y.: The *Candida* species that are important for the development of atrophic glossitis in xerostomia patients. *BMC Oral Health*, 2017; 17: 153

[67] Nakano M., Suzuki M., Wakabayashi H., Hayama K., Yamachi K., Abe F., Abe S.: Synergistic anti-candida activities of lactoferrin and the lactoperoxidase system. *Drug Discov. Ther.*, 2019; 13: 28–33

[68] Nash A.K., Auchtung T.A., Wong M.C., Smith D.P., Gesell J.R., Ross M.C., Stewart C.J., Metcalf G.A., Muzny D.M., Gibbs R.A., Ajami N.J., Petrosino J.F.: The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort. *Microbiome*, 2017; 5: 153

[69] Norris H.L., Friedman J., Chen Z., Puri S., Wilding G., Edger-

- ton M.: Salivary metals, age, and gender correlate with cultivable oral *Candida* carriage levels. *J. Oral Microbiol.*, 2018; 10: 1447216
- [70] Perera M., Al-Hebshi N.N., Perera I., Ipe D., Ulett G.C., Speicher D.J., Chen T., Johnson N.W.: A dysbiotic mycobiome dominated by *Candida albicans* is identified within oral squamous-cell carcinomas. *J. Oral Microbiol.*, 2017; 9: 1385369
- [71] Pietrzak A., Grywalska E., Socha M., Roliński J., Franciszkiwicz-Pietrzak K., Rudnicka L., Rudzki M., Krasowska D.: Prevalence and possible role of *Candida* species in patients with psoriasis: A systematic review and meta-analysis. *Mediators Inflamm.*, 2018; 2018: 9602362
- [72] Pimentel M., Cash B.D., Lembo A., Wolf R.A., Israel R.J., Schoenfeld P.: Repeat rifaximin for irritable bowel syndrome: No clinically significant changes in stool microbial antibiotic sensitivity. *Dig. Dis. Sci.*, 2017; 62: 2455–2463
- [73] Raimondi S., Amaretti A., Gozzoli C., Simone M., Righini L., Candelieri F., Brun P., Ardizzoni A., Colombari B., Paulone S., Castagliuolo I., Cavalieri D., Blasi E., Rossi M., Peppoloni S.: Longitudinal survey of fungi in the human gut: ITS profiling, phenotyping, and colonization. *Front. Microbiol.*, 2019; 10: 1575
- [74] Ramazzotti M., Stefanini I., Di Paola M., De Filippo C., Rizzetto L., Berná L., Dapporto L., Rivero D., Tocci N., Weil T., Lenucci M.S., Lionetti P., Cavalieri D.: Population genomics reveals evolution and variation of *Saccharomyces cerevisiae* in the human and insects gut. *Environ. Microbiol.*, 2019; 21: 50–71
- [75] Russell C., Lay K.M.: Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. *Arch. Oral Biol.*, 1973; 18: 957–962
- [76] Sato T., Kishi M., Suda M., Sakata K., Shimoda H., Miura H., Ogawa A., Kobayashi S.: Prevalence of *Candida albicans* and non-*albicans* on the tongue dorsa of elderly people living in a post-disaster area: A cross-sectional survey. *BMC Oral Health*, 2017; 17: 51
- [77] Scanlan P.D., Marchesi J.R.: Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: Qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *ISME J.*, 2008; 2: 1183–1193
- [78] Schei K., Avershina E., Øien T., Rudi K., Follestad T., Salamati S., Ødegård R.A.: Early gut mycobiota and mother-offspring transfer. *Microbiome*, 2017; 5: 107
- [79] Seddik H.A., Ceugniz A., Bendali F., Cudennec B., Drider D.: Yeasts isolated from Algerian infants's feces revealed a burden of *Candida albicans* species, non-*albicans* *Candida* species and *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Microbiol.*, 2016; 198: 71–81
- [80] Shimizu C., Kuriyama T., Williams D.W., Karasawa T., Inoue K., Nakagawa K., Yamamoto E.: Association of oral yeast carriage with specific host factors and altered mouth sensation. *Oral Surg., Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 2008; 105: 445–451
- [81] Standaert-Vitse A., Sendid B., Joossens M., François N., Vandewalle-El Khoury P., Branche J., Van Kruiningen H., Jouault T., Rutgeerts P., Gower-Rousseau C., Libersa C., Neut C., Broly F., Chamailard M., Vermeire S. i wsp.: *Candida albicans* colonization and ASCA in familial Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2009; 104: 1745–1753
- [82] Stecksén-Blicks C., Granström E., Silfverdal S.A., West C.E.: Prevalence of oral *Candida* in the first year of life. *Mycoses*, 2015; 58: 550–556
- [83] Strati F., Di Paola M., Stefanini I., Albanese D., Rizzetto L., Lionetti P., Calabrò A., Jousson O., Donati C., Cavalieri D., De Filippo C.: Age and gender affect the composition of fungal population of the human gastrointestinal tract. *Front. Microbiol.*, 2016; 7: 1227
- [84] Suhr M.J., Banjara N., Hallen-Adams H.E.: Sequence-based methods for detecting and evaluating the human gut mycobiome. *Letts. Appl. Microbiol.*, 2016; 62: 209–215
- [85] Szymańska J., Wójtowicz A., Malm A.: Assessment of *Candida* spp. frequency in the oral cavity ontocenosis of healthy individuals in different age groups. *J. Pre-Clinical Clin. Res.*, 2016; 10: 91–94
- [86] Taheri J.B., Mortazavi H., Mohammadi S., Bakhtiari S., Namazi F., Valaei N., Bakhshi M., Baharvand M., Bahemmat N.: Evaluation of *Candida* isolation from vaginal mucosa of mothers and oral mucosa of neonates on the basis of delivery type. *African J. Microbiol. Res.*, 2011; 5: 5067–5070
- [87] Tanida T., Ueta E., Tobiume A., Hamada T., Rao F., Osaki T.: Influence of aging on candidal growth and adhesion regulatory agents in saliva. *J. Oral Pathol. Med.*, 2001; 30: 328–335
- [88] Ukhanova M., Wang X., Baer D.J., Novotny J.A., Fredborg M., Mai V.: Effects of almond and pistachio consumption on gut microbiota composition in a randomised cross-over human feeding study. *Br. J. Nutr.*, 2014; 111: 2146–2152
- [89] Vesty A., Biswas K., Taylor M.W., Gear K., Douglas R.G.: Evaluating the impact of DNA extraction method on the representation of human oral bacterial and fungal communities. *PLoS One*, 2017; 12: e0169877
- [90] Ward T.L., Dominguez-Bello M.G., Heisel T., Al-Ghalith G., Knights D., Gale C.A.: Development of the human mycobiome over the first month of life and across body sites. *mSystems*, 2018; 3: e00140–17
- [91] Ward T.L., Knights D., Gale C.A.: Infant fungal communities: Current knowledge and research opportunities. *BMC Med.*, 2017; 15: 30
- [92] Xiao J., Huang X., Alkhers N., Alzamil H., Alzoubi S., Wu T.T., Castillo D.A., Campbell F., Davis J., Herzog K., Billings R., Kopycka-Kedzierawski D.T., Hajshengallis E., Koo H.: *Candida albicans* and early childhood caries: A systematic review and meta-analysis. *Caries Res.*, 2018; 52: 102–112
- [93] Zöllner M.S., Jorge A.O.: *Candida* spp. occurrence in oral cavities of breastfeeding infants and in their mothers' mouths and breasts. *Pesqui. Odontol. Bras.*, 2003; 17: 151–155
- [94] Zwolińska-Wcisło M., Budak A., Bogdał J., Trojanowska D., Stachura J.: Effect of fungal colonization of gastric mucosa on the course of gastric ulcers healing. *Med. Sci. Monit.*, 2001; 7: 266–275

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.