

Patogenní kvasinky



Kvasinkové patogeny

Candida
Cryptococcus
Malassezia
Trichosporon
Rhodotorula

Hansenula
Torulopsis
Geotrichum
Saccharomyces

- 70 – 90 % onemocnění kvasinkami jsou kandidózy
- počet druhů působících jako etiologické agens a účastnících se patologických procesů u člověka, se zvyšuje
- Většina kvasinkových druhů je nepatogenní, patogenními se stávají v podmínkách poruch imunitní odpovědi

Přehled onemocnění způsobených patogenními houbami

Aspergilóza (Aspergillus sp.)

Blastomykóza (Blastomyces sp.)

Kandidóza (Candida sp.)

Kokcidioidomykóza

Kryptokokóza (Cryptococcus sp.)

Histoplasmomykóza (Histoplasma caps)

Mukormykóza (Mucor)

Paracoccidioidomycosis

Sporotrichóza (Sporothrix schenckii)

➤ Mykózy:

- **primární**
- **oportunní** (u imunokompromitovaných pacientů – AIDS, leukémie, diabetes, popáleniny, terapie kortikosteroidy, imunosupresivy)
- **Systémové** – plíce, játra, srdce, mozek, slezina
- **Lokální** – kůže, ústní dutina, vagina aj

➤ forma a závažnost infekce závisí na:

- infekčním agens (druh, množství)
- způsobu a bráně infekce
- stavu imunitního systému hostitele

➤ endogenní infekce (autoinfekce) zdrojem jsou komenzálové člověka – při porušení homeostázy, vnímavosti a rezistence

➤ povrchové mykózy – nakažlivé

Některé mykózy mají charakteristickou **geografickou distribuci**:

Coccidioidomycosis: jihozápad USA a severní Mexiko


Histoplasmosis: jižní oblasti USA

Blastomycosis: USA a Afrika

Paracoccidioidomycosis: Jižní Amerika

Sporotrichosis: Střední Amerika, Mexiko

Diagnostika:

- kombinace klinického pozorování a laboratorního vyšetření
 - Laboratorní vyšetření:
 - mikroskopický průkaz
 - kulturační průkaz
 - sérologické metody
- 

Mikroskopický průkaz

povrchové mykózy - šupinky kůže, části nehtů, seškrab kštice s vlasovými kořínky a kožními šupinami

kandidóza – stěry sliznic

systemové infekce – vzorky tkání z více míst

přímá mikroskopie:

- ve vlhkých preparátech po natrávení tkáně 10-20% hydroxidem draselným
- infekce sliznic – Gramovo barvení
- morfologie buněk

histologické vyšetření



kultivace

- většina kvasinek snadno kultivovatelná
 - Sabouraudův agar
(glukóza, sladivový agar, hydrolyzát kaseinu + chloramfenikol nebo amikacin + vankomycin)
 - Czapek – Doksův agar
- současně při 25 – 30°C a 37°C
- doba kultivace 1 – 5 dnů

- kvašení cukrů a další biochemické testy

(identifikační soupravy)

auxanogram – test na asimilaci cukrů a dusíkatých látek (zdroj C) – podle aktivity na barevných substrátech

zymogram – pův. test na zkvašování cukrů , nyní detekce enzymů podle aktivity na uč. Substrátu (na želatině)

Charakteristika kolonií *Candida* spp. narostlých na CHROMagaru

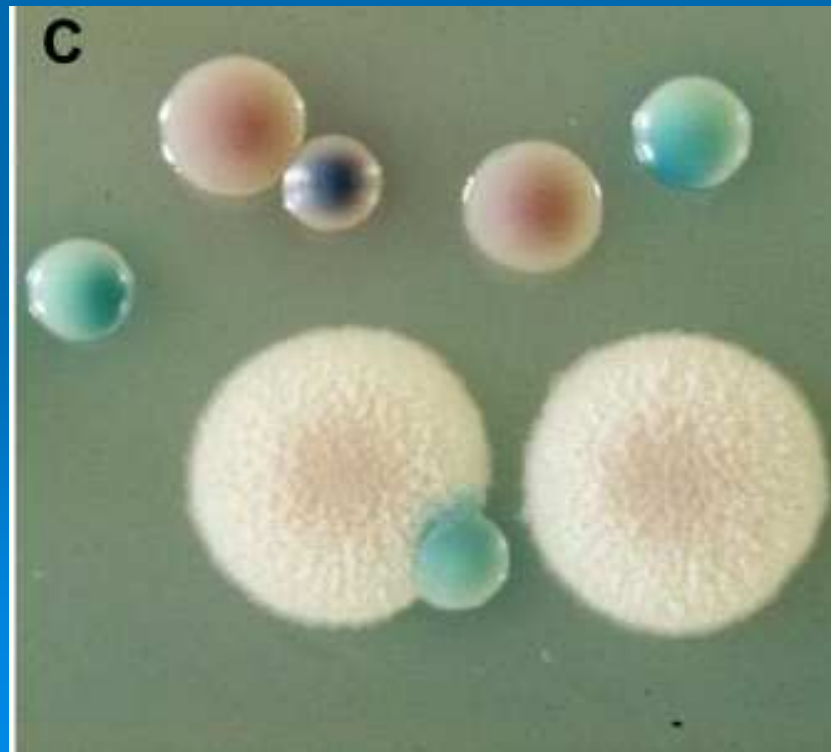
Barva kolonií *Candida albicans* zelená

Candida tropicalis modrozelená až kovově modrá

Candida krusei sametově růžová (chmýřovitá)

Candida glabrata růžová, nachová

Ostatní druhy bílá až světle fialová



sérologie

Průkaz specifických protilátek:
(protilátková odpověď slabá)

- ELISA

Antimykotika:

kvasinky - eukaryontní buňky – běžná antibakteriální antibiotika jsou neúčinná

Terčové struktury antimykotik:

buněčná stěna

plasmatická membrána

cytoskelet

Antimykotika → toxický účinek na
hostitele)

Přehled antimykotik:

Imidazolová antimykotika

Ovlivňují cytochrom P-450, netvoří se tak ergosterol

Zástupci:

Ketokonazol – široké antimykotické spektrum (dermatofyty, kandidy, dimorfní houby, indikace: systémové mykózy a vaginální mykózy)

Klotrimazol

Triazolová antimykotika

Flukonazol

Polyenová antimykotika

váží na ergosterol plasmatické membrány a způsobují perforace plasmatické membrány, působí hlavně na kvasinky a plísně

Zástupci:

Amfotericin B – hlavně na kvasinky, plísně a prvoky,

Nystatin – antimykotikum k lokálnímu užití.

Ostatní systémová antimykotika

Griseofulvin – váže se na mikrotubuly a blokuje mitózu

Flucytosin

Allylamine and Morpholine Antifungal Drugs

Allylamines (naftifine, terbinafine) inhibit ergosterol biosynthesis at the level of squalene epoxidase. The morpholine drug, amorolfine, inhibits the same pathway at a later step.

Antimetabolite Antifungal Drugs

5-Fluorocytosine acts as an inhibitor of both DNA and RNA synthesis via the intracytoplasmic conversion of 5-fluorocytosine to 5-fluorouracil.

- **Příklady antimykotik podle aplikace:**

- **perorálně:** ketokonazol, terbinafin

- **parenterálně:**

 - amfotericin B, mikonazol...

 - (malá vstřebatelnost z trávicího ústrojí)

- **parenterálně i perorálně:**

 - flukonazol, itrakonazol, flucytozin...

existuje **primární i získaná rezistence**
k azolovým sloučeninám

Další příklady antimykotik

griseofulvin – proti dermatofytům

imidazoly

kyselina nalidixová

fluoropyrimidiny

kandicidin

další látky toxické vůči kvasinkám:

jodid draselný, kyselina boritá, bazická
barviva

kombinace antimykotik:

Povrchové mykózy

Povrchová kandidóza:

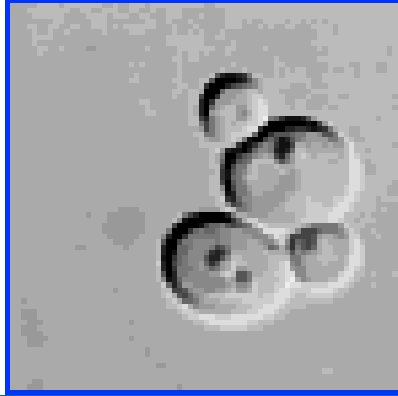
- postižení kůže, nehtů, sliznic úst a pochvy (infekce sliznic – „moučnivka“)
- 80 – 90% *Candida albicans*, zbývající případy další druhy (*C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*...)
- 20% lidské populace – *C. albicans* součást komensální flóry pokožky a sliznic
- výskyt závisí na stavu organismu – bakteriální či virová infekce, těhotenství, aj

Candida albicans Germ
treat <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4774-9>



25°C

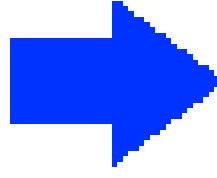
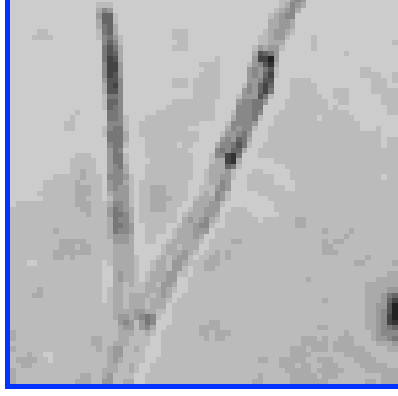
Yeast
Levures



37°C

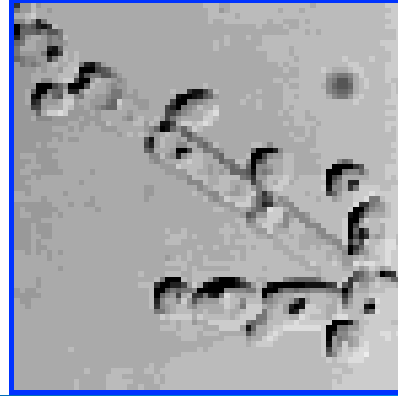


Hypa
Hyphes



37°C

Pseudohyphae
Pseudohyphes





Candida albicans
Sabouraudův agar



Identifikace:

- Sabouraudův glukózový agar – kvasinková fáze (oválné buňky, 3-8 μm), kolonie za 1-2 dny při 25°C
- *in vivo* – směs kvasinkových buněk, pseudomycelia a pravého mycelia
- po obarvení dle Grama: grampozitivní oválné pučící buňky

- ***Candida albicans*** – tvorba charakteristických klíčků (po 90–120 minutách inkubace v séru při 37°C)
- další identifikace: soupravy, testy fermentace a utilizace cukrů a zdrojů dusíku

Léčení:

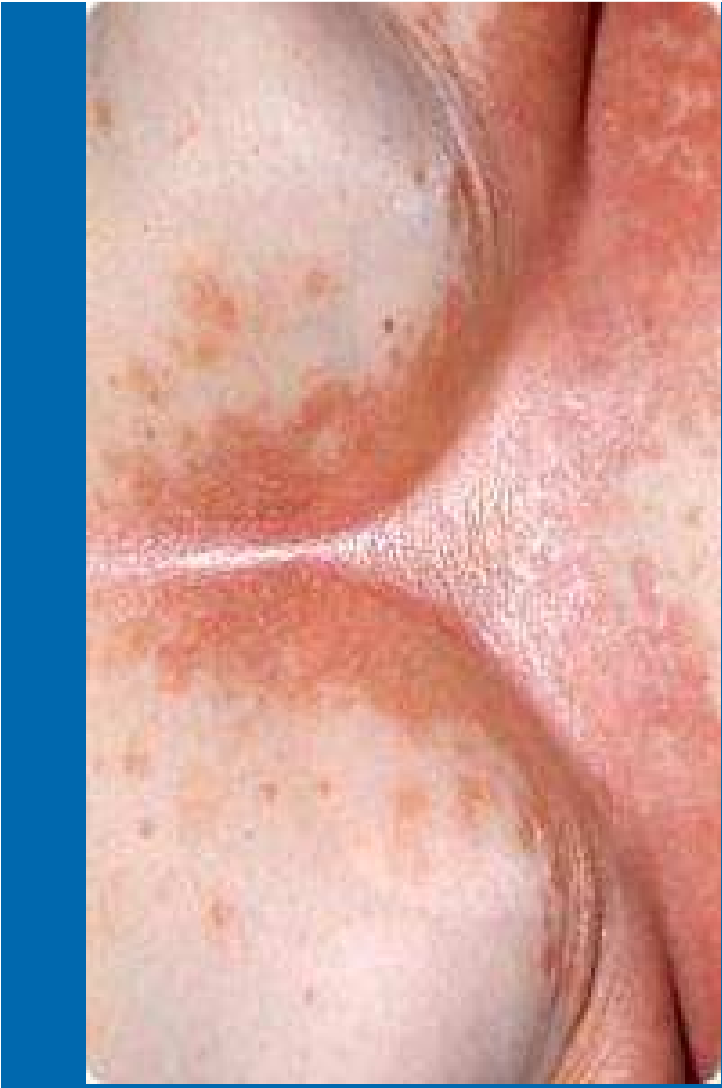
- **lokální terapie** nystatinem, amfotericinem B, mikonazolem
- **vaginální kandidóza** – azolové deriváty, azolové poševní čípky u recidivujících případů

infekce sliznic:

- nejčastější povrchové kandidózy
- na sliznici ohraničené bílé skvrny, mohou splývat a vytvářet pseudomembrány (tvarohový vzhled)
- **infekce dutiny ústní:**
 - bukální sliznice, tvrdé patro, okolí bílých skvrn zarudlé
 - kojenci, staré osoby, osoby se sníženou imunitou (AIDS)
 - umělý chrup – infekce pod protézou

infekce kůže a nehtů:

- v tříslech, mezi prsty, v podpažní jamce, pod prsy (v místech vlhké zapáčky)
- postižení nehtu a nehtového lůžka – při častém máčení rukou (ošetřovatelky, myčky nádobí)



Mykotické plaky na zubech

Původce: většinou *Candida albicans*, souvislost se stravovacími návyky

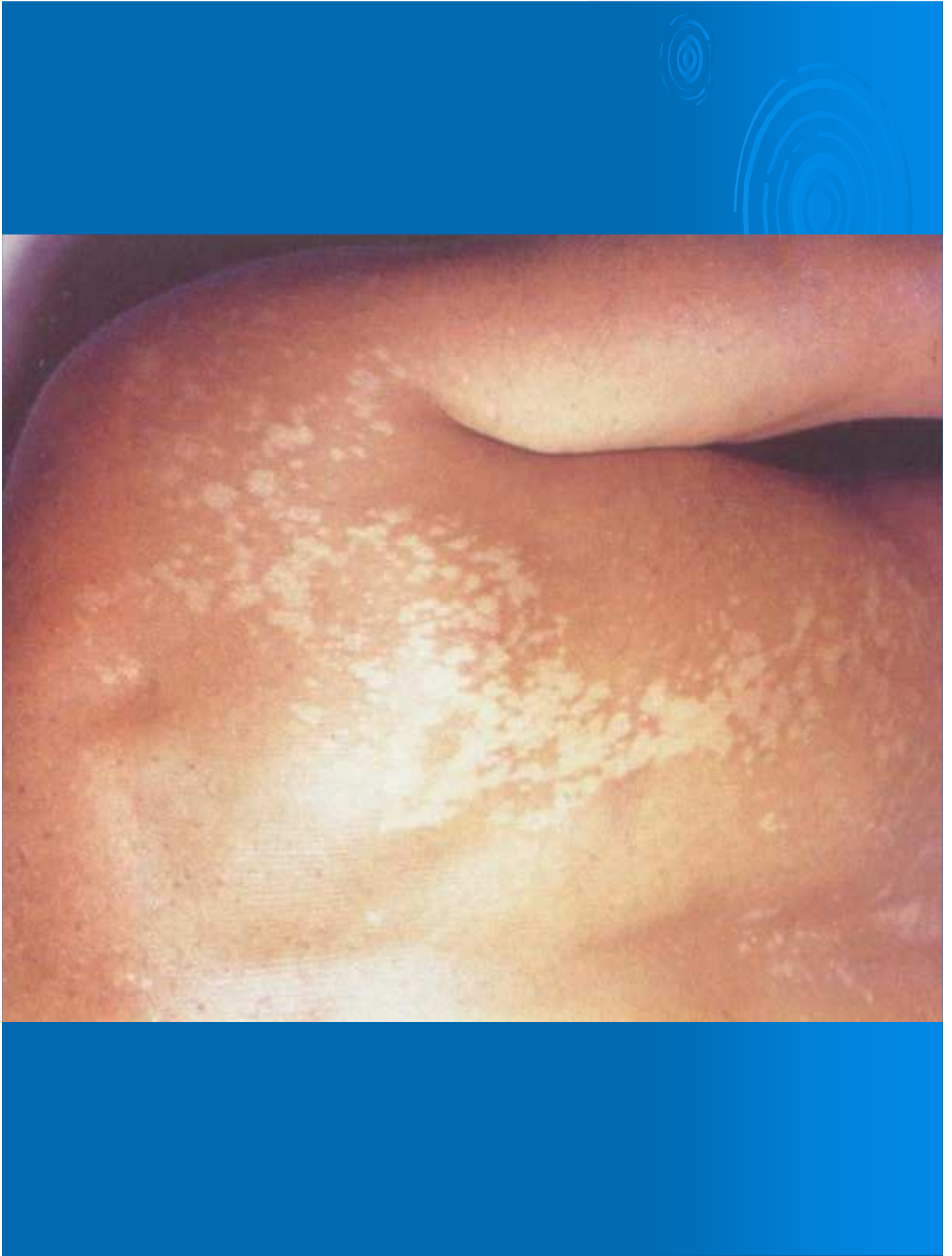


Pityriasis versicolor

- chronická infekce způsobená lipofilní *Malassezia furfur*
- odbarvené skvrny na kůži

M. furfur

- běžný komenzál na kůži, většina infekcí je endogenní
- vyžaduje k růstu lipidy; monopolárně pučící (jediný rod)
- oválné lahvovité buňky, velikost 2-3 x 4-6 μm , při *pityriasis versicolor* kvasinkovité buňky s krátkými hyfami
- kultivace – speciální půdy s Tweenem nebo lipidy (37°C)
- podílí se na tvorbě lupů a seboroické dermatitidě





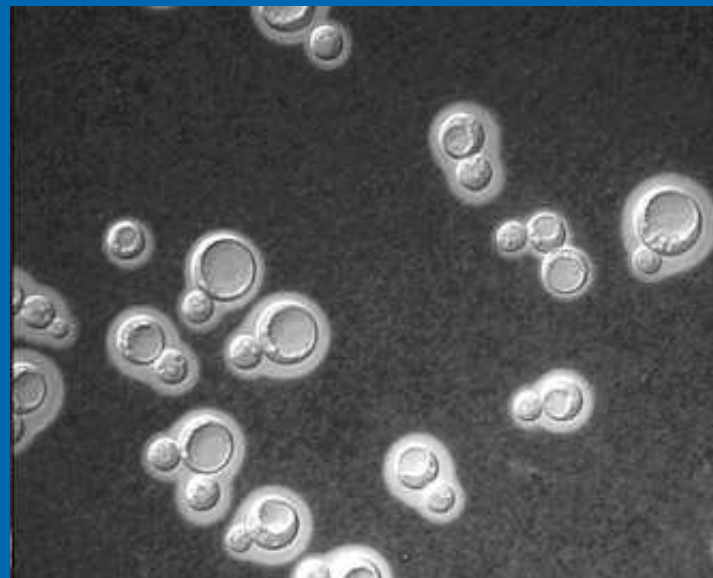
Systemové mykózy

Kryptokokóza:

- způsobuje ***Cryptococcus neoformans*** vytvářející hladké lesklé kolonie, kolem buněk silné pouzdro
- onemocnění CNS a plic
- sporadicky po celém světě, nejčastější u pacientů s AIDS (u 10%)
- prostředí – alkalické substráty bohaté na dusík

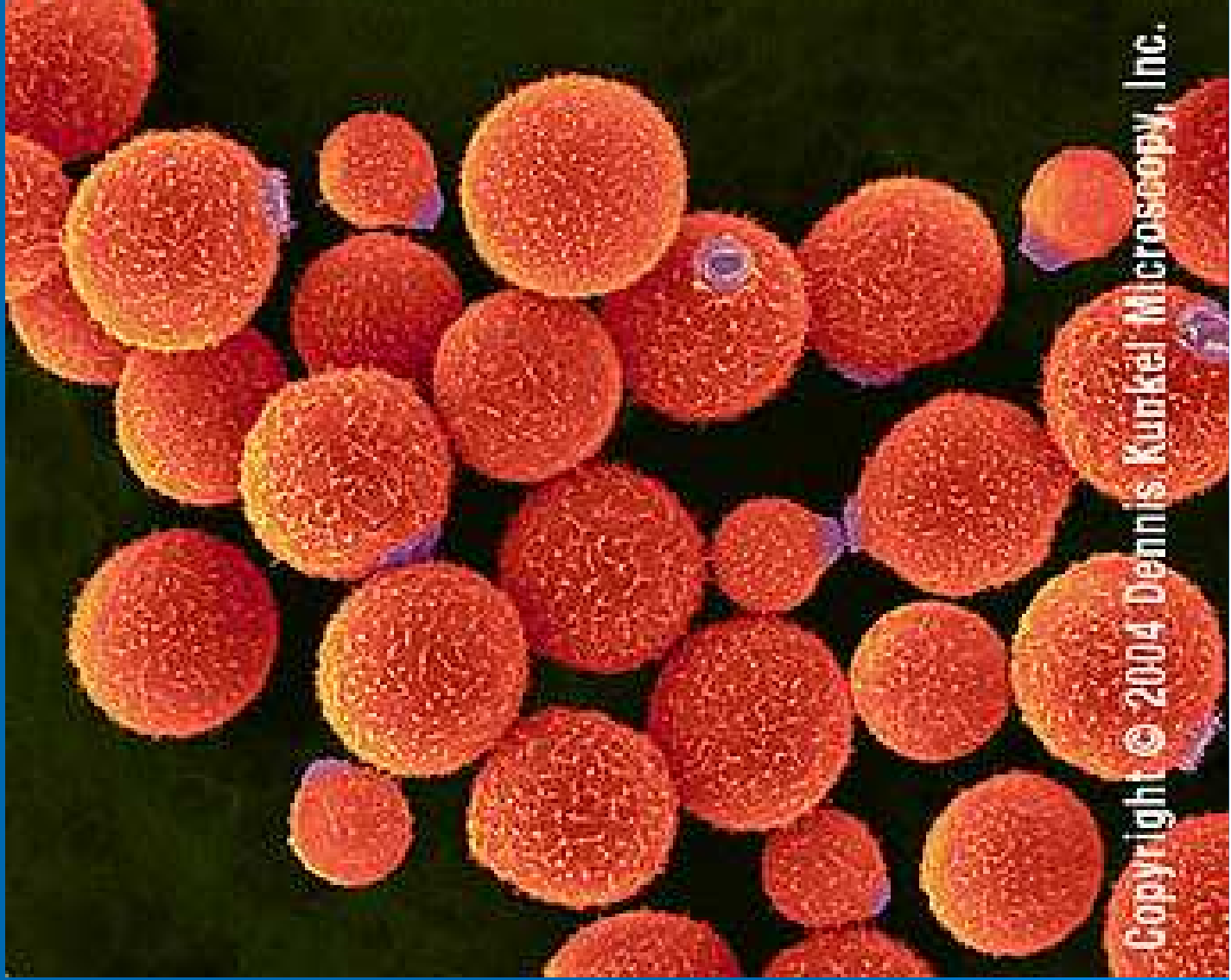


Kožní infekce



Fázový kontrast





Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Průkaz:

mikroskopicky: v mozkomíšním moku a dalším klinickém materiálu - kulovité buňky 2–10 μm s mukopolysacharidovým **pouzdem** (až 60 % izolátů) – po smíšení mozkomíšního moku s tuší se pouzdro jeví jako jasný dvorec kolem buněk

kultivace: - na Sabouradově agaru při 25–30°C a 37°C za 2-3 dny

- smetanově bílé až žlutohnědé mukózní kolonie (neopouzdržené kmeny – suché)

- netvoří pseudomycelium ani mycelium

- nefermentuje cukry, silná produkce ureázy, asimilace inozitolu

Blastoschizomyces capitatus

(dříve *Trichosporon capitatum*)

- diseminované infekce
 - oslabení neutropeničtí pacienti se zhoubnými lymfomy
- asimilace pouze glukózy a galaktózy

Geotrichum candidum

- infekce u diabetiků,
imunosuprimovaných osob

Saccharomyces cerevisiae

- sepsy a plicní infekce
- původce vaginálních mykóz (8,5 %)



Rhodotorula

- barevné kolonie (oranžové, červené)
- neasimiluje inositol



Dimorfní houby


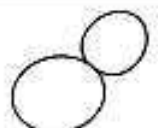
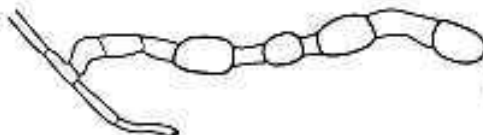
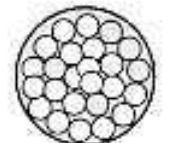
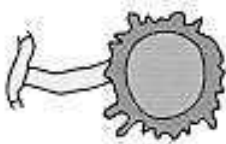
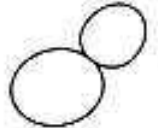
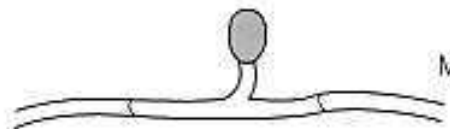

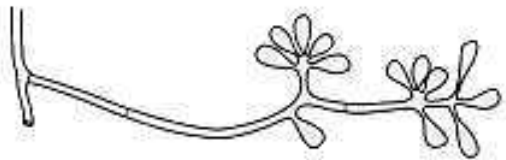
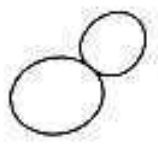
vláknitá fáze

- většinou saprofytická (průnik přes kůži a sliznice)

kvasinková fáze

- infekční (hluboké infekce tkání a orgánů)
- **kvasinkový** růst podporují bohatější půdy (krevní agar) a teplota 35–37°C
- tvorba **hyf** – teplota 25–30°C

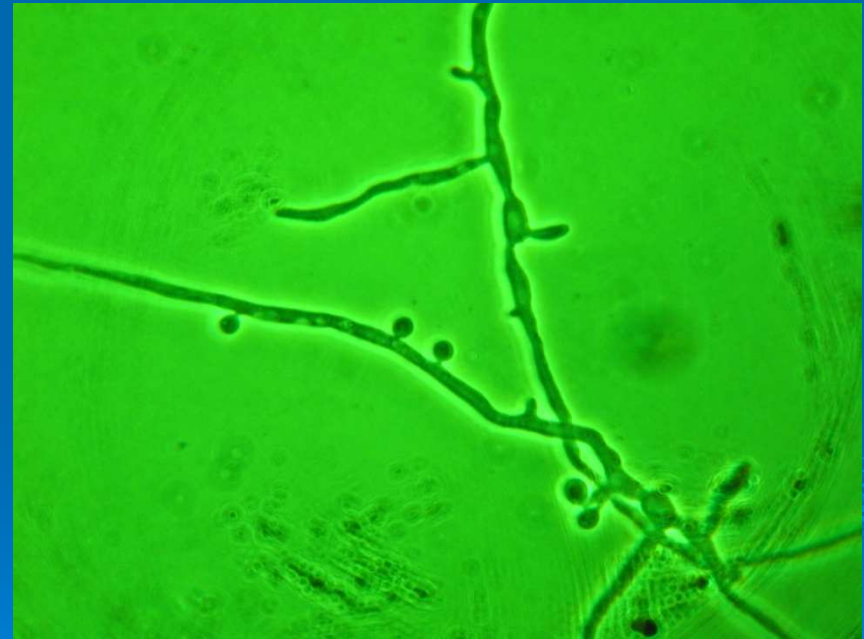
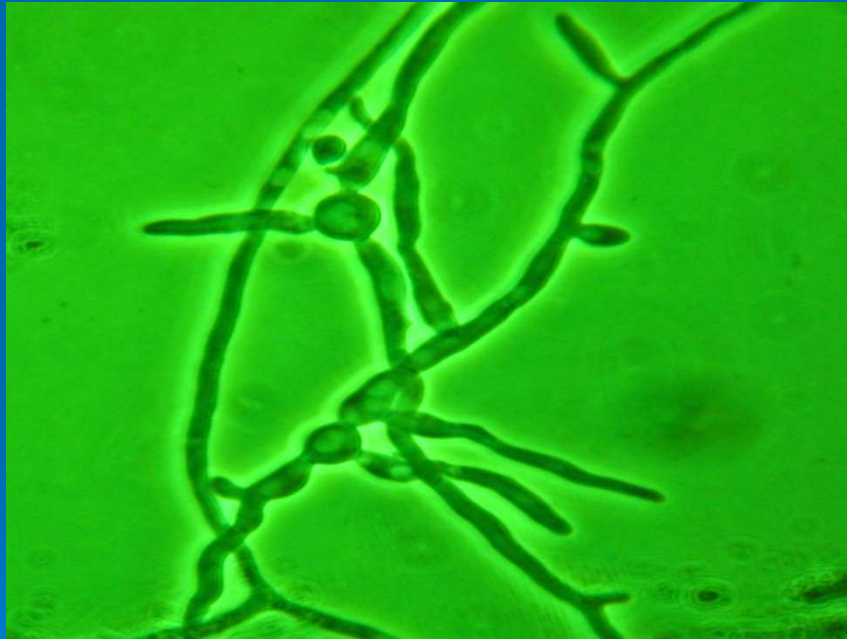
Dimorfní patogenní kvasinky

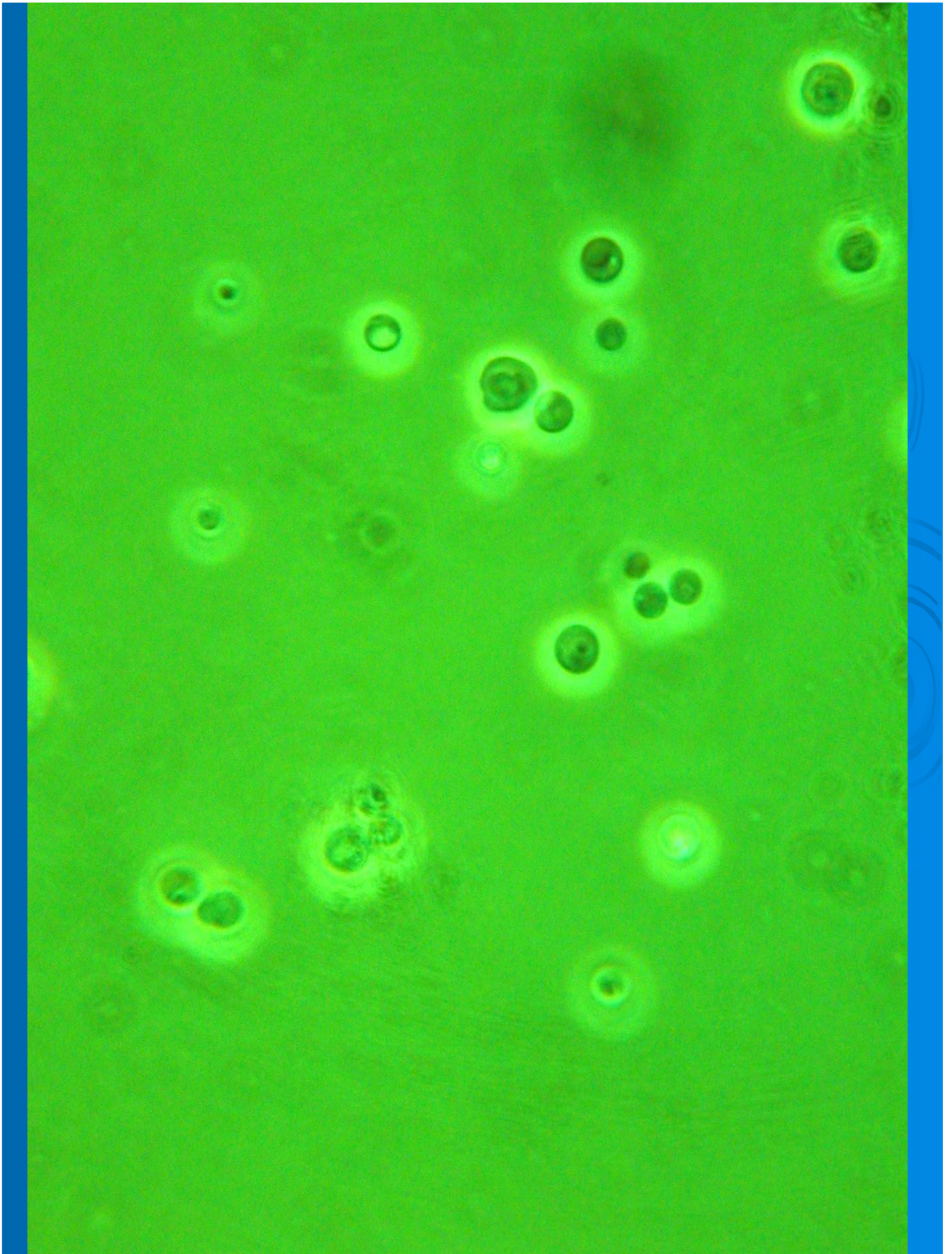
Fungus	In vitro (25° C)	In vivo (37° C)
<i>Blastomyces</i>	 Mold	 Yeast
<i>Coccidioides</i>	 Mold	 Spherule
<i>Histoplasma</i>	 Mold	 Yeast
<i>Paracoccidioides</i>	 Mold	 Yeast
<i>Sporothrix</i>	 Mold	 Yeast

Blastomykóza, kokcidiomykzá, sporotrichóza etc.

Sporothrix schenckii

buňky ve fázovém kontrastu – hyfy a konídie





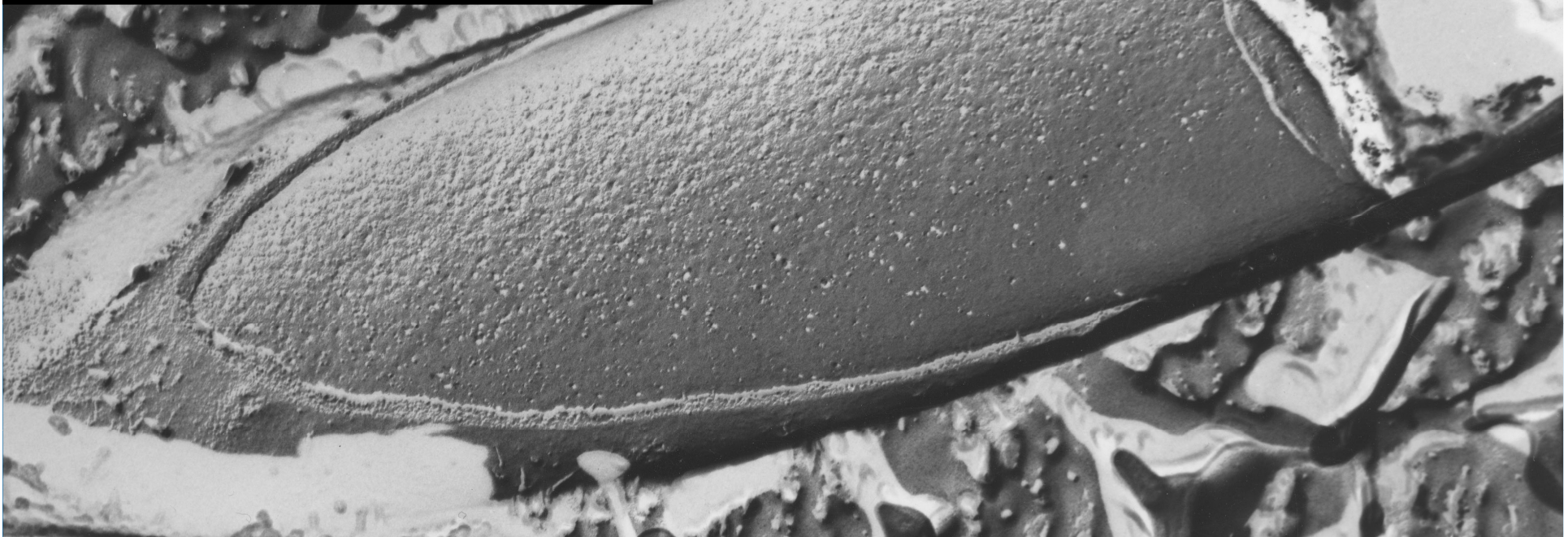
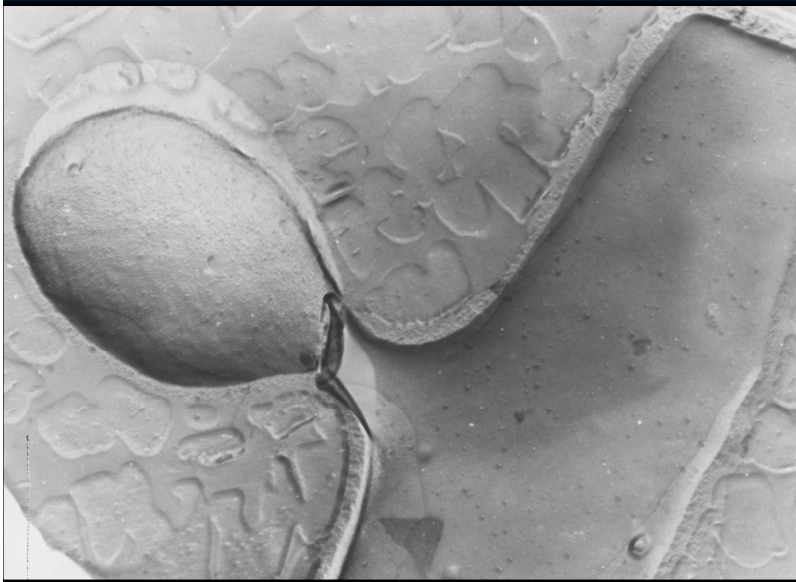
Sporothrix schenckii

studie buněk freeze fracture technikou

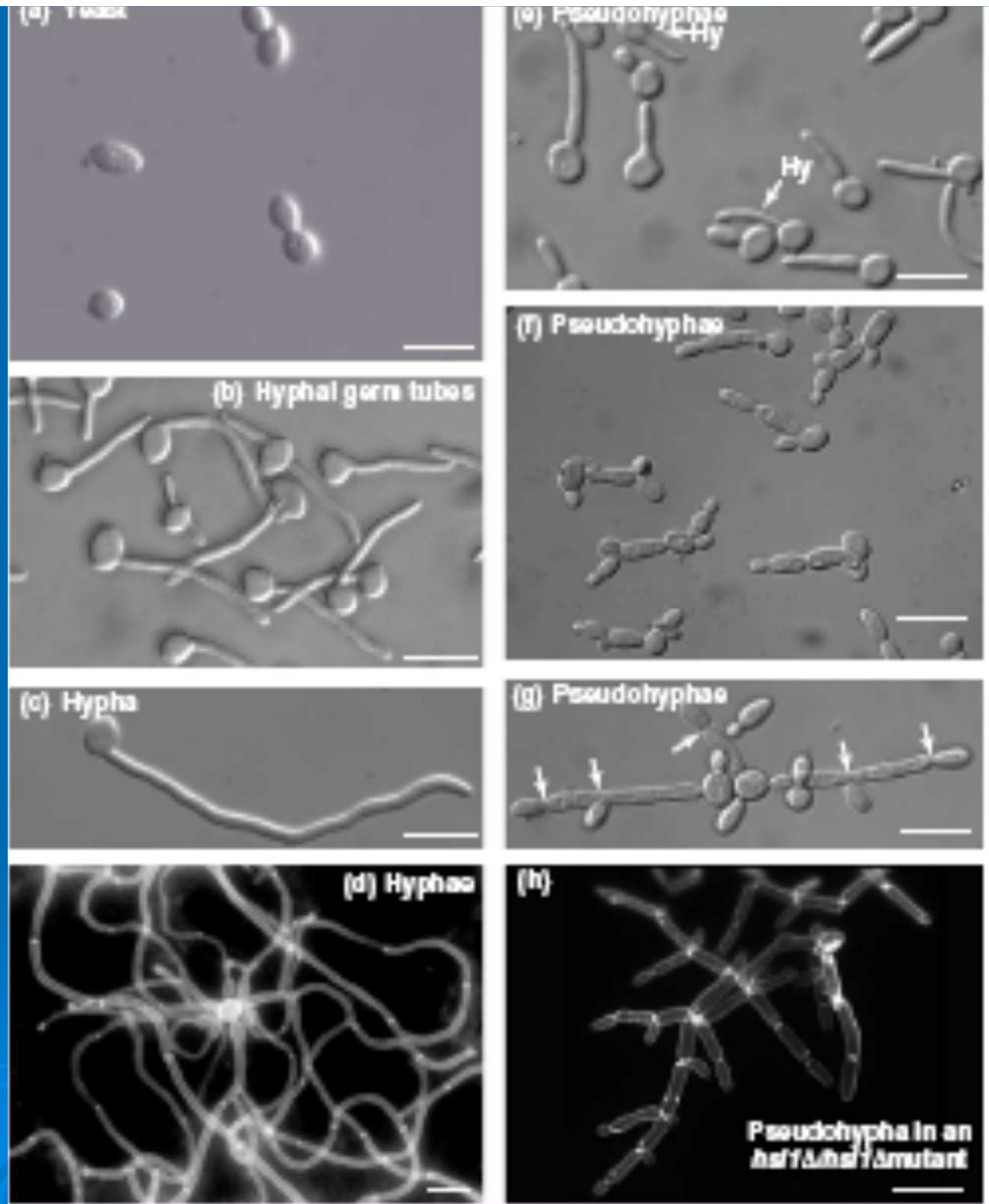
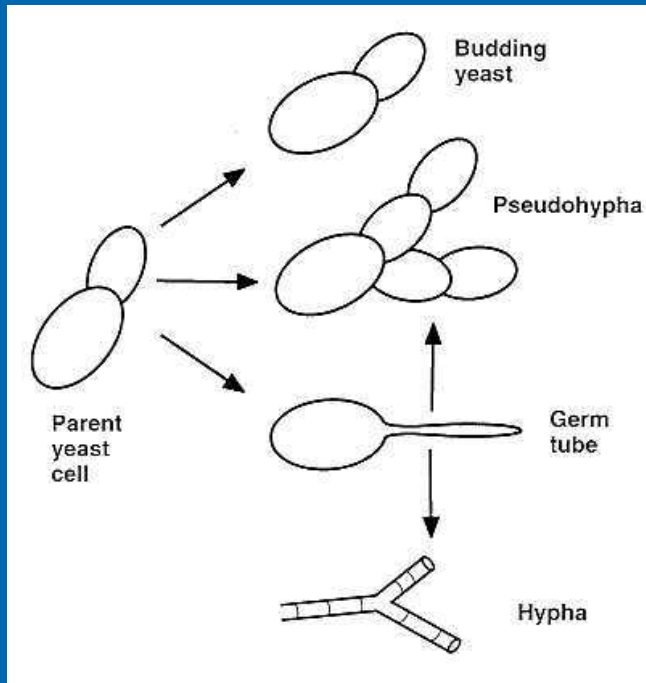


Sporothrix schenckii

studie buněk freeze-fracture technikou

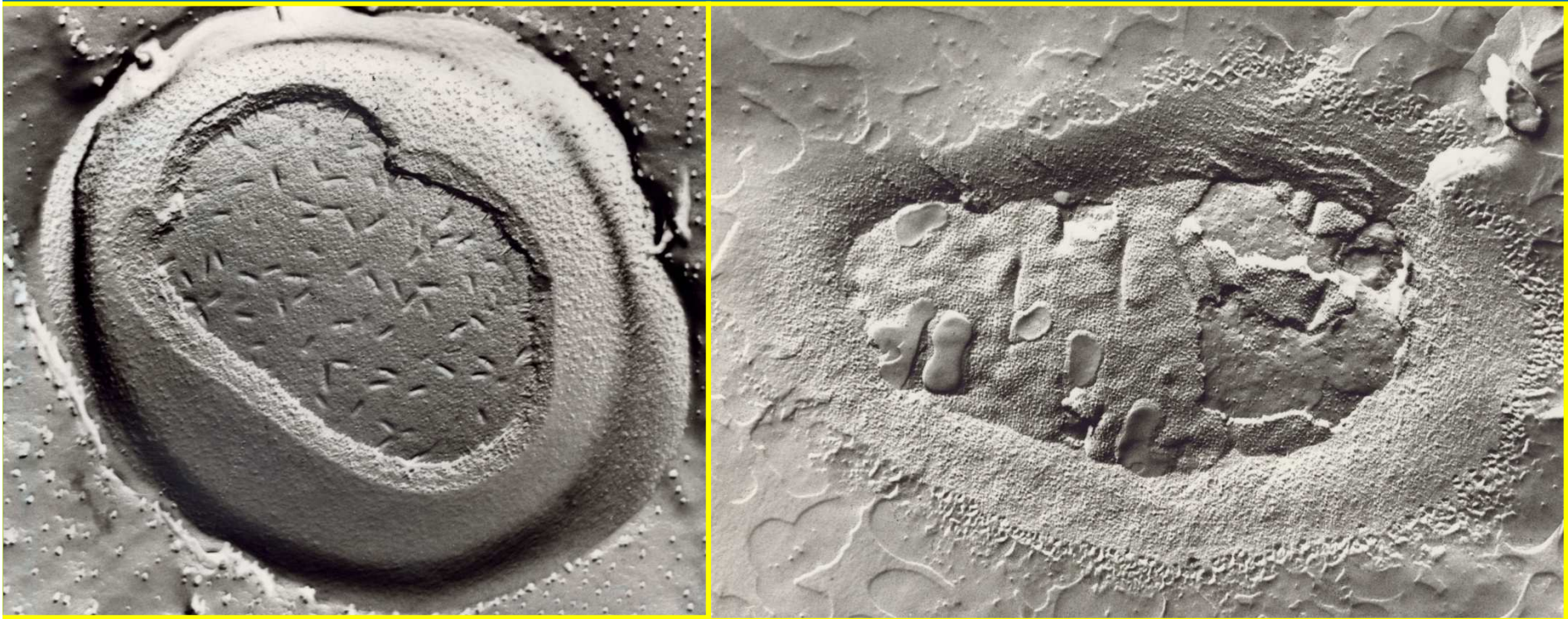


Candida albicans



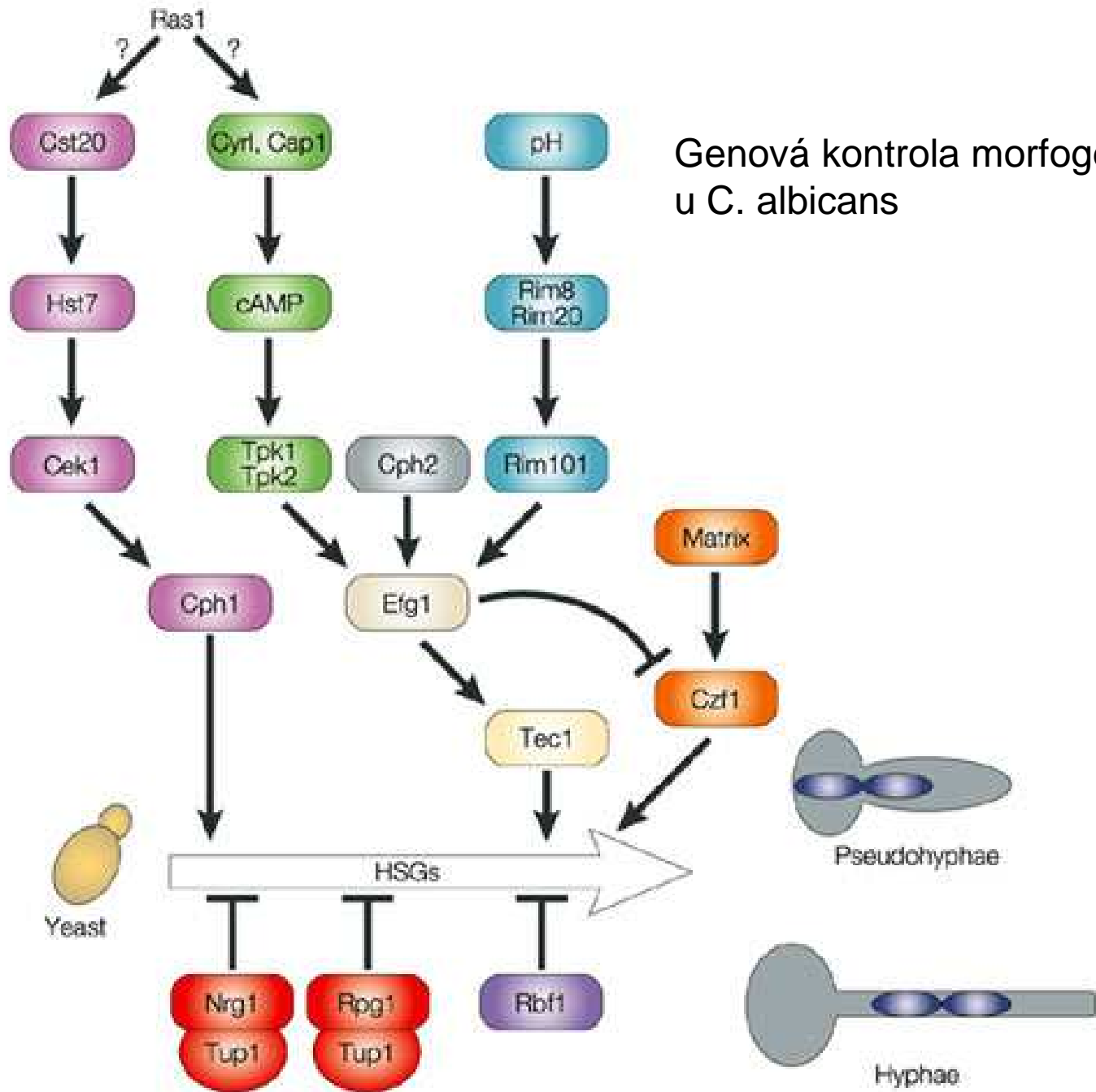
Candida albicans

studium vlivu antibiotika nystatinu na morfologii
plasmatické membrány





Genová kontrola morfogeneze u *C. albicans*

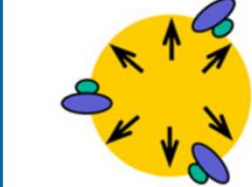


Role Ca^{++} v morfogenezi *Candida albicans*

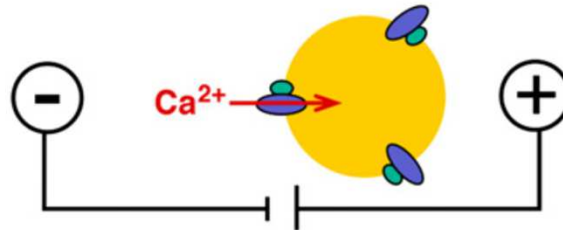
Localized Ca^{2+} -channel activation caused by localized changes in membrane potential or membrane stretch, results in calcium influx that directs polarized growth

A Galvanotropism

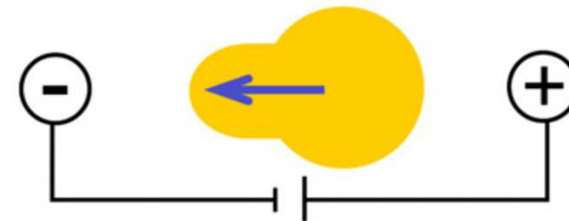
Mid1-Cch1p complex



No electric field.
Site of germ tube
emergence is random.



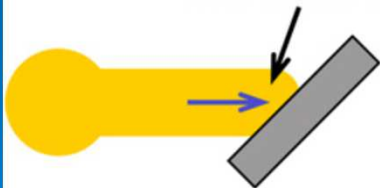
Electric field depolarizes membrane
at cathodal face, activating Cch1p.



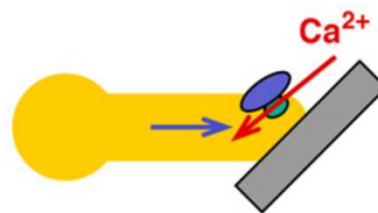
Localized Ca^{2+} influx via Cch1p
establishes axis of cell polarity.
Germ tube emergence is cathodal.

B Thigmotropism

Membrane stretch



Contact with a ridge
causes membrane stretch,
detected by Mid1p.



Calcium entry via
activated Mid1p.



Localized Ca^{2+} influx
redirects cell polarity machinery
to new growth axis.

Blastomyces dermatitis



Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation