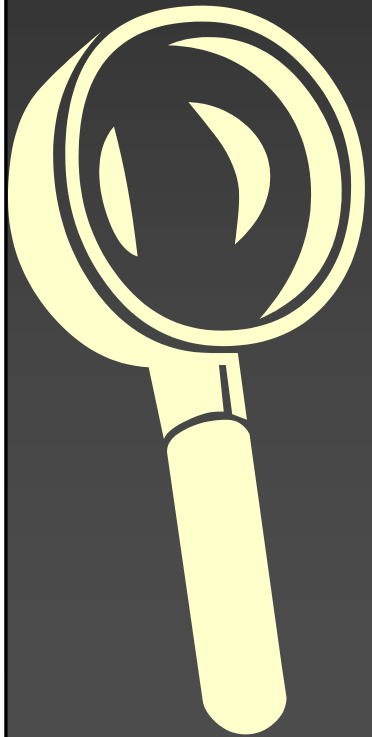


Mikrobiologický ústav uvádí

# NA STOPĚ PACHATELE



Díl desátý:

Pachatelé houbovití

# Opět začneme testíkem...

- Jaké je složení G+ buněčné stěny?

Peptidoglykan (murein), řetězce kys. teichoové

- Jaké je složení G- buněčné stěny?

Tenká vrstva mureinu, nad ní vnější membrána

- Co obsahuje buněčná stěna mykobakterií?

Mykolové kyseliny, proto je hydrofobní

- Jaké jsou tvarové možnosti bakterií?

Koky, kokotyčinky, tyčinky, vláknité tyčinky až vlákna, spirochety, bez tvarové (mykoplasmata)

# Testík pokračuje... a končí

- Které jsou klinicky významné spirochety?

Borrelie, treponemata a leptospiry

- Které testy se používají ve screeningu syfilis?

Netreponemové – RRR, treponemové - TPHA

- Které testy se užívají ke confirmaci syfilis?

FTA-ABS, ELISA, Western blotting, popř. PCR

- Které testy se užívají k diagnostice borrelií?

ELISA jako základ, Western blot ke confirmaci

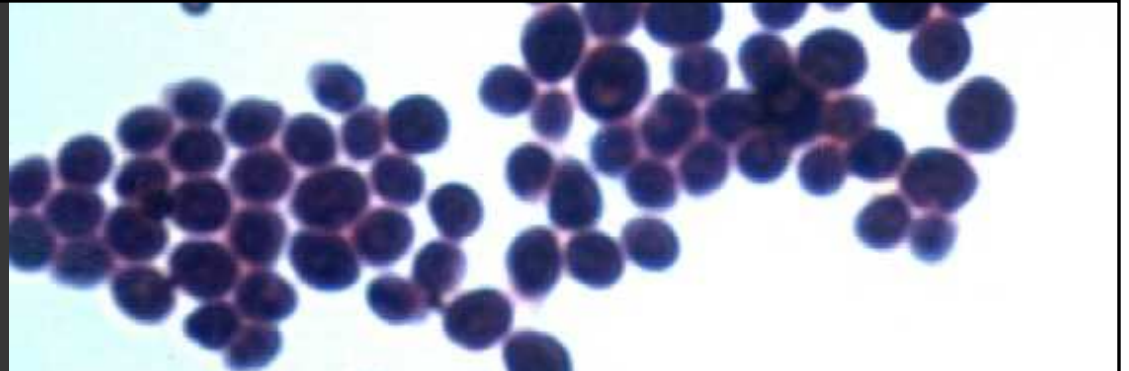
© 2005 Robert Hlobiliek



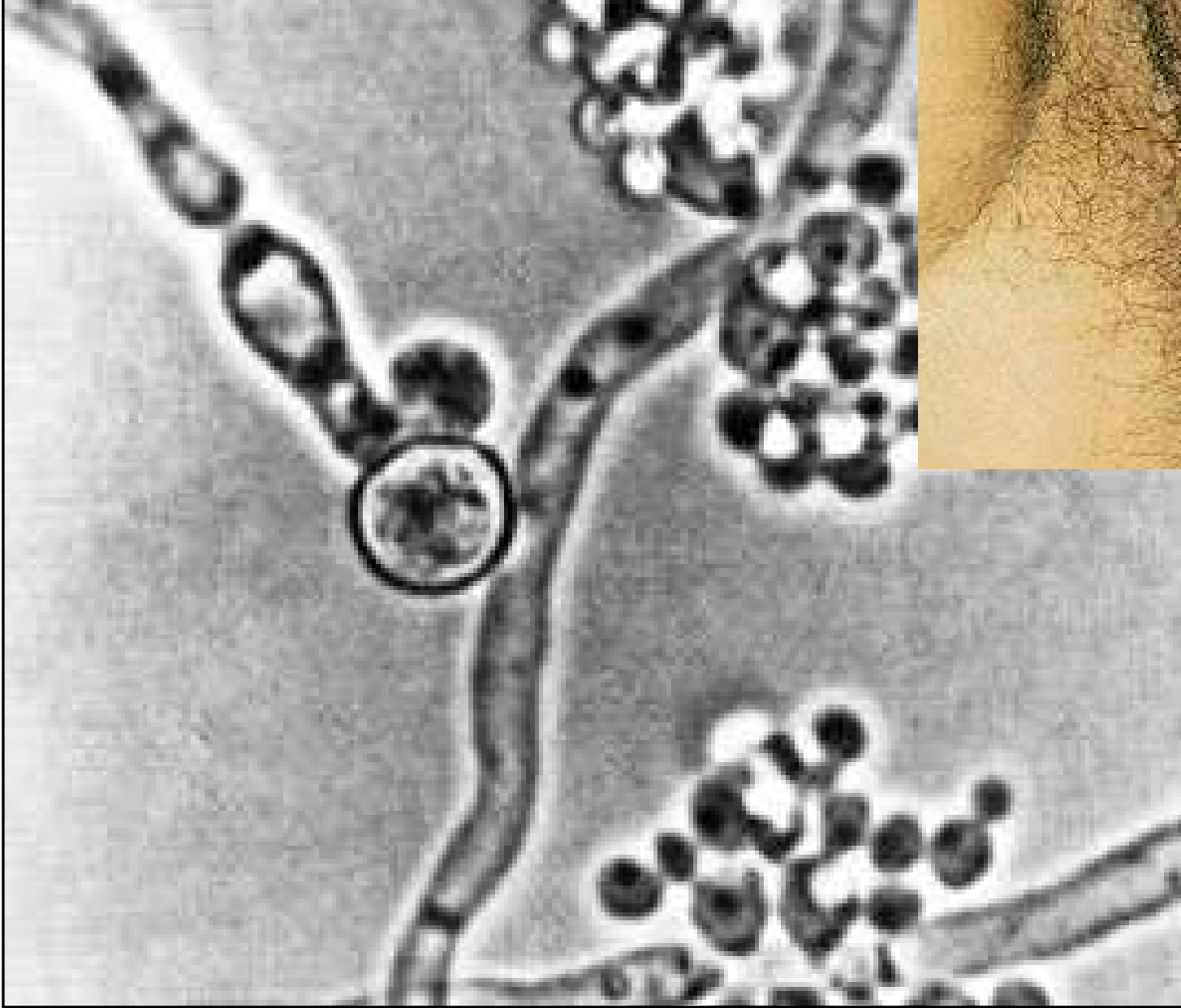
# Příběh první

- Ellen se trápila. Její přítel jí vyčítal, že s ním nechce spát. Ve skutečnosti ji přítel přitahoval, jenže pokaždé, když se milovali, začalo ji to „tam dole“ nepříjemně svědit.
- Což o to, už byla za svou gynekoložkou, a ta jí předepsala vaginální čípky. Čípky však pomohly jen na chvíli.
- Ellen se už doopravdy naštvála. Změnila gynekologa. Nový gynekolog, vyslechnuv její příběh, pochopil, že lokální terapie nebude stačit. Až celková terapie vyhnala původce jejích potíží nejen z pochvy, ale i ze střevního rezervoáru. Tím její potíže pominuly.

# Viníkem byla



- *Candida albicans*, nejběžnější z kvasinek. Vaginální mykózy jsou často úporné a velice nepříjemné. Jsou dobře adaptované na přítomnost v organismu. Často nečiní žádné obtíže, Jindy naopak dělá problémy velice úporné.
- Na **poševních kandidózách** se podílí mnoho faktorů. Významné jsou dietní vlivy (kvasinky jsou mlsné, a je-li mlsná i jejich hostitelka, s povděkem to uvítají), ale také hormonální vlivy, těhotenství, cukrovka a mnoho dalších vlivů.
- Vaginální mykóza by tedy nikdy **neměla být řešena bez kontextu celkového stavu ženy.**



# Příběh druhý

- Pan Leopold byl archivář. Celé dny trávil ve **vlhkém a zaprášeném archivu**. Postupně začal čím dál více **pokašlávat**. Chvíli se už obával, jestli snad nemá tuberkulózu, ale tuberkulóza to nebyla. Po zjištění pravé příčiny jeho potíží začaly Leopoldovy potíže ustupovat – pomalu, ale jistě.

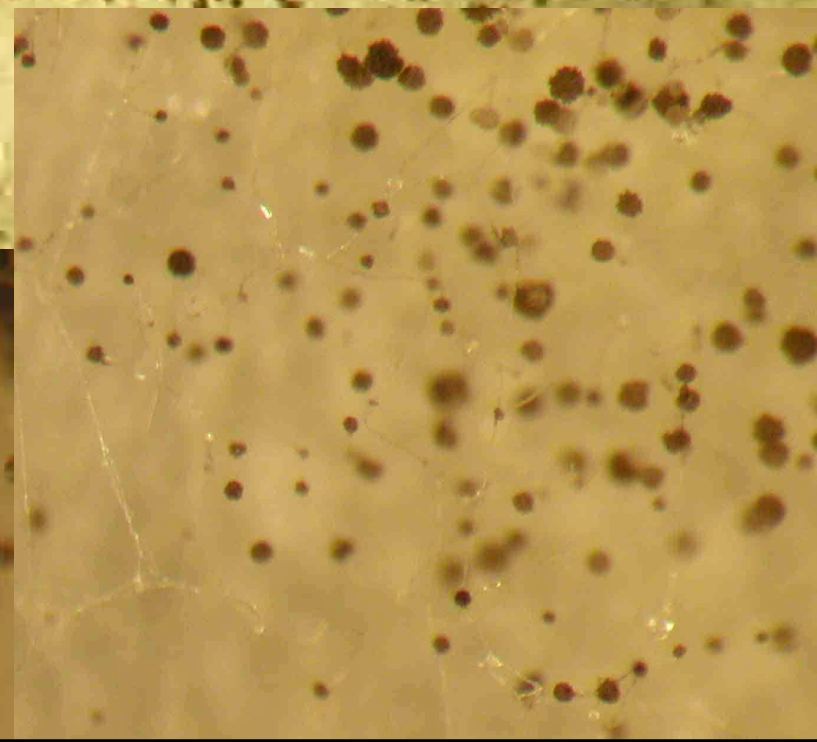
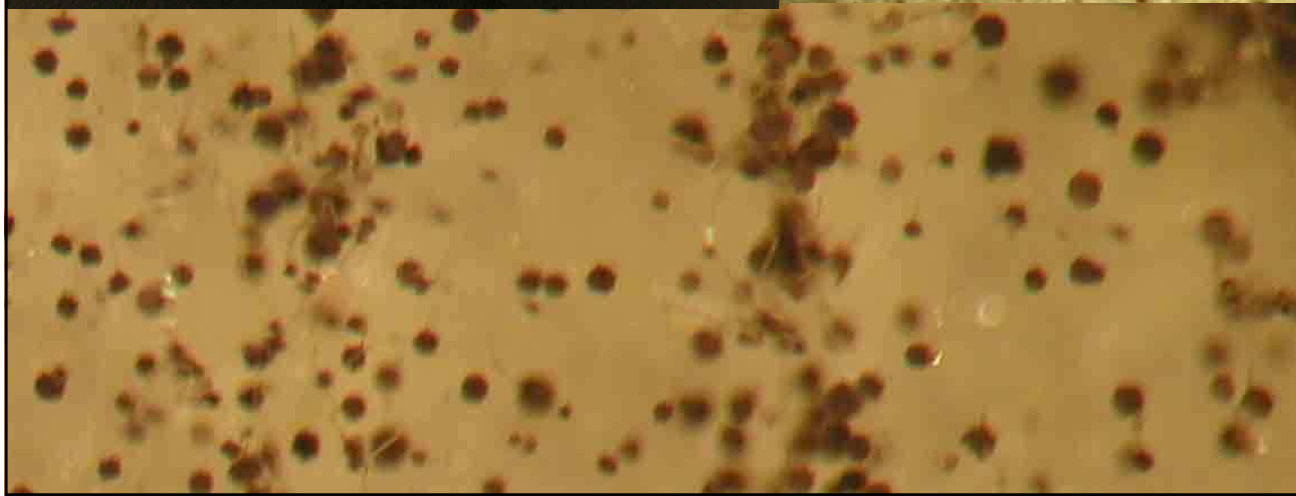
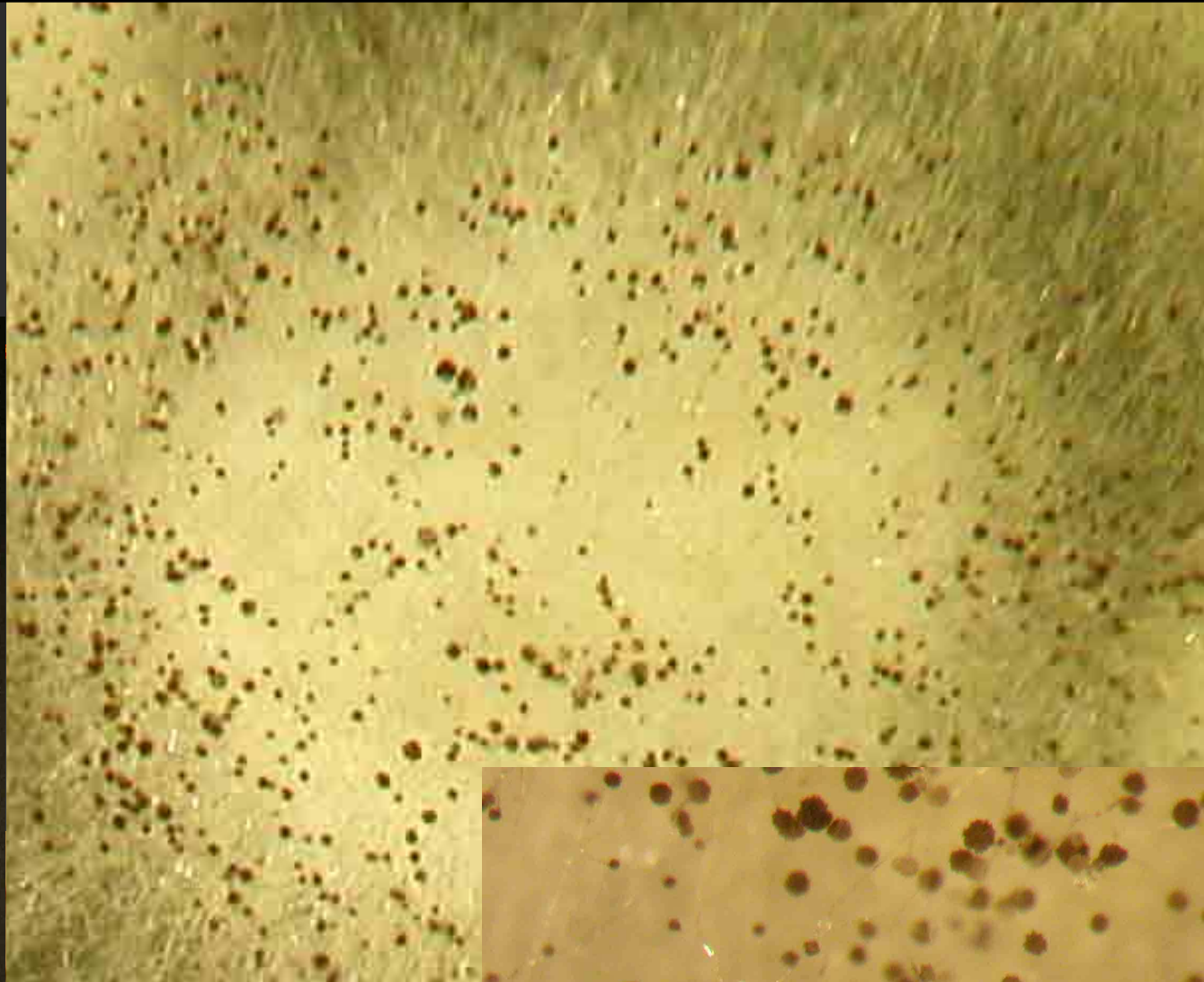
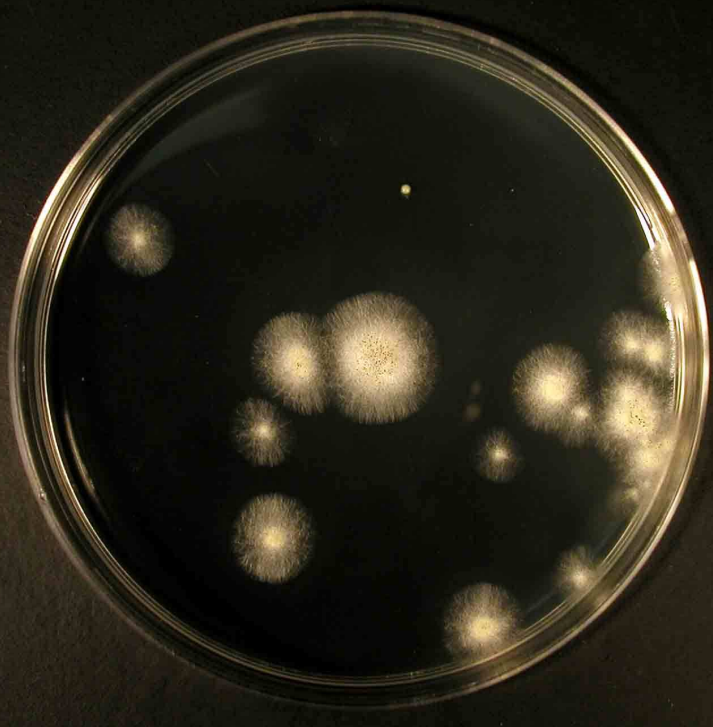


# Viníkem zde byl

- *Aspergillus niger*, neboli kropidlák černý
- Kropidláky napadají častěji lidi oslabené, mohou však napadnout i člověka zdravého. Často se aspergilóza vyskytuje jako profesní onemocnění lidí, pracujících ve vlhkých, zaprášených provozech, kde neustále poletují různé plísňové spóry.



# Kropidlák černý



# Obečná charakteristika hub

- Houby jsou **eukaryotní organismy**, na rozdíl od **prokaryotních bakterií**
- Jejich **buněčná stěna je tvořena polysacharidy**, má jinou stavbu a složení než buněčná stěna bakterií. Barví se ale modře („grampozitivně“)
- Většinou mají **pomalejší buněčný cyklus** než bakterie → infekce bývají zdlouhavější
- Nepůsobí na ně většina antibakteriálních látek a musíme používat zvláštní skupinu látek – **antimykotika**, která zase nejsou účinná při léčbě bakteriálních infekcí

# Houby a zdraví

- Kromě mikroskopických hub, o kterých je řeč v tomto praktiku, nesmíme zapomenout ani na **houby, které mají makroskopické plodnice**
- **Otravy plodnicemi velkých hub** (muchomůrka zelená, vláknice Patouillardova, závojenka olovová, muchomůrka panterová, lysohlávky) každoročně znamenají zdravotní obtíže desítek lidí. V případě muchomůrky zelené jde často o smrtelné případy.



# Některé jedovaté velké houby

Poznáte  
je?



1

1 Muchomůrka  
zelená



2

2 Vláknice  
Patouillardova



3

3 Muchomůrka  
panterová  
(tygrovaná)



4

4 Závojenka  
olovová

# Klinicky významné houby

- Mikroskopické houby v těle působí
  - **Mykózy** – houbové záněty
  - **Mykotoxikózy** – toxické působení
  - **Mykoalergózy** – alergie na houby
  - **Mycetismy** – houba přítomna v těle, působí jen útlakem okolních tkání
- Nejdůležitější jsou mykózy, které dělíme na povrchové (kožní a slizniční ) a systémové

# Povrchové mykózy 1

- Kromě rodu *Candida* (viz dále) se na nich podílejí **specializovaní zástupci** rodů *Trichophyton*, *Epidermophyton* a *Microsporum*
- Některé druhy se přenášejí **mezi lidmi**, jiné ze **zvířat** či z **prostředí**
- **Rostou velmi pomalu** in vivo i in vitro. Kultivace trvá několik týdnů. Také průběh a léčba je **zdlouhavá**

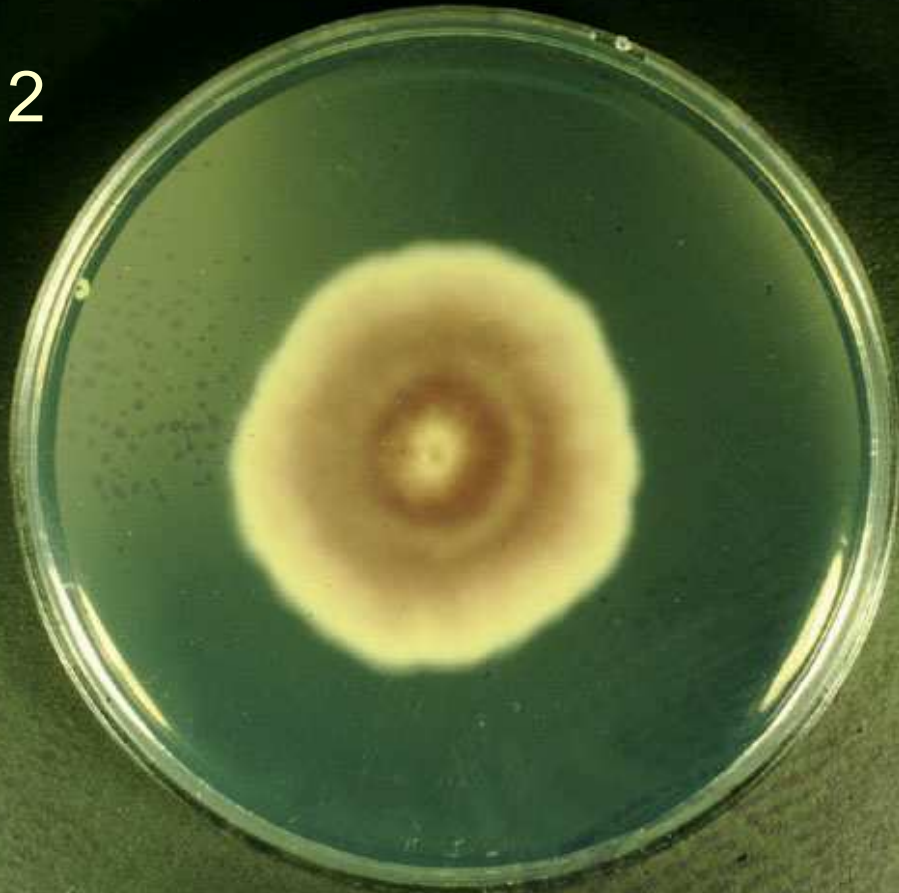
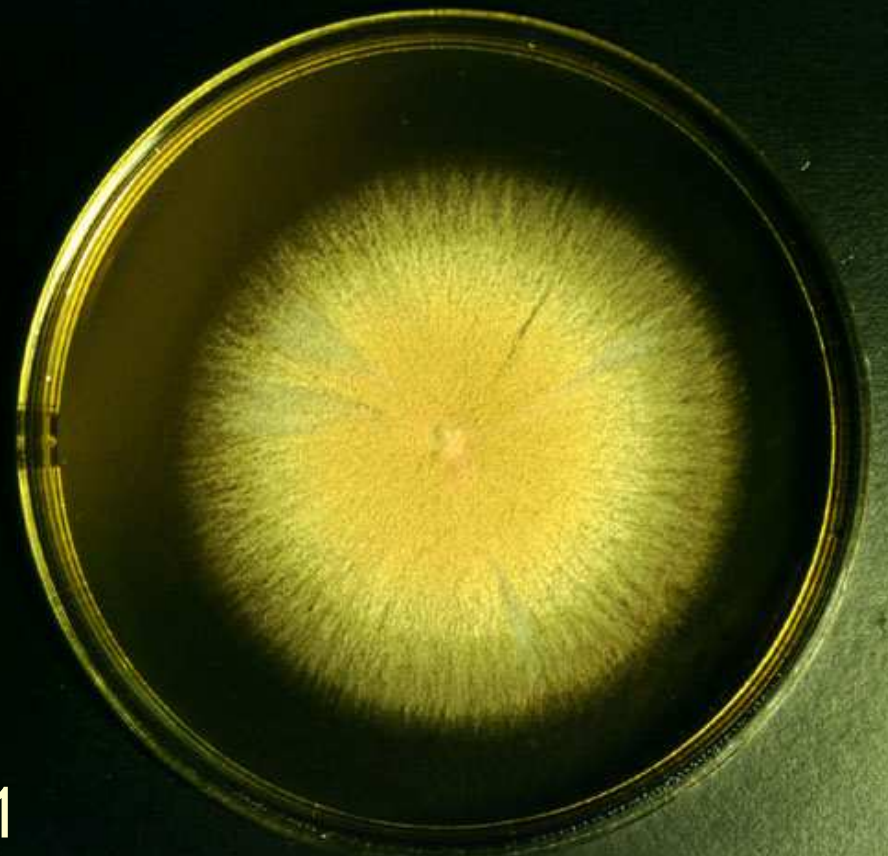
# Povrchové mykózy 2

- **Odběry:** šupiny z kůže, ústřížky nehtů, vlasů apod.; vždy je potřeba odebrat vzorek tak, aby bylo zachyceno místo, kde je zánět aktivní, a zároveň nezachytit kontaminace; doporučuje se i povrchová desinfekce (likvidace kontaminant z povrchu kůže)
- **Vlastní diagnostika:** mikroskopická (nálezn vláken ve tkáni) a kultivační. Mikroskopická je důležitější – vykultivovat lze kontaminaci.
- **Léčba** je zpravidla lokální (masti, šampony)



# Některí původci

- 1 *Epidermophyton floccosum*
- 2 *Trichophyton rubrum*
- 3 *Trichophyton mentagrophytes*



# Systemové mykózy 1

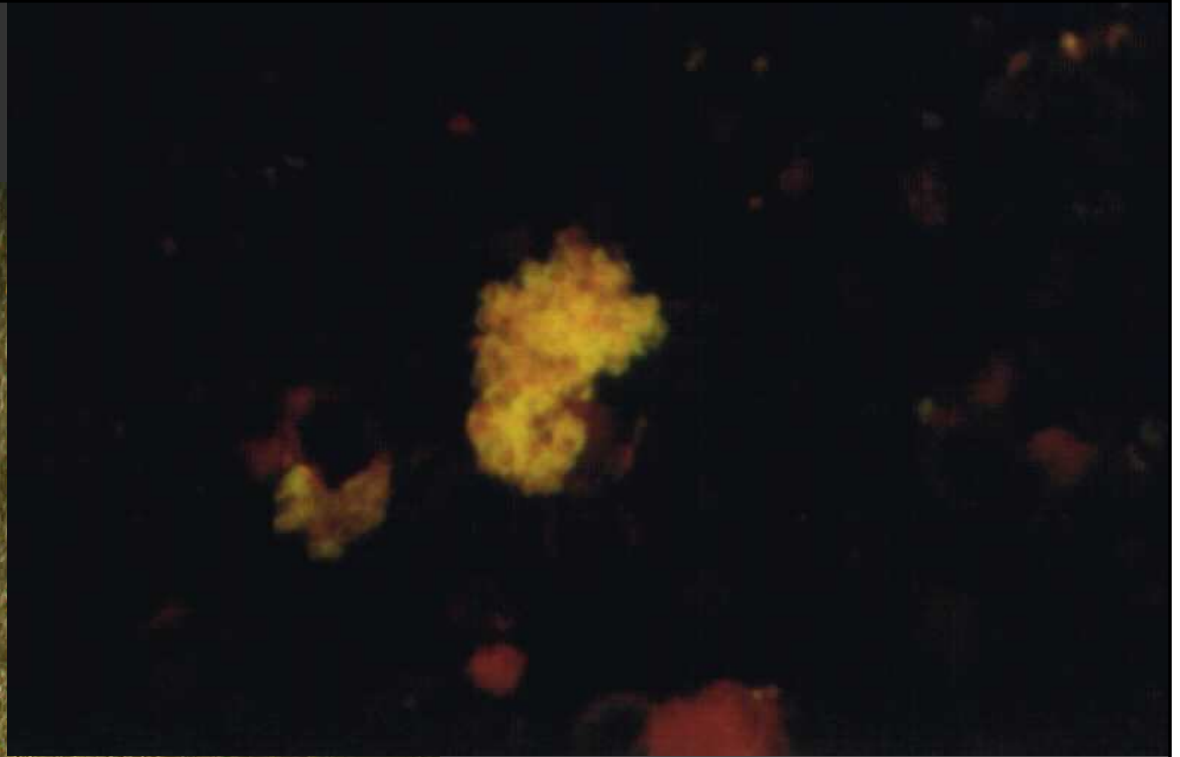
- Zasahují více orgánů, často celé tělo
- Jsou téměř vždy důsledkem nějakého **základního onemocnění**:
  - Diabetes mellitus
  - Poruchy imunity, nádory bílých krvinek aj.
  - Transplantovaní pacienti
- **Původci**: *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Pneumocystis* a další

# Systemové mykózy 2

- Kromě vlastní diagnostiky mykózy je třeba vždy vypátrat (pokud to není známo), co je primární příčinou
- **Diagnostika:**
  - pro **přímý průkaz** jakýkoli relevantní materiál: krev na hemokultivaci, punktáty, excize apod.
  - moderní metody umožňují např. přímý průkaz antigenů (manany, glukany) v krvi
  - **nepřímý průkaz** – protilátky v séru (aspergily)
- **Léčba:** používají se silná, širokospektrá a vysoce účinná antimykotika (amfotericin B, vorikonazol, itrakonazol, flucytosin)



# Někteří původci

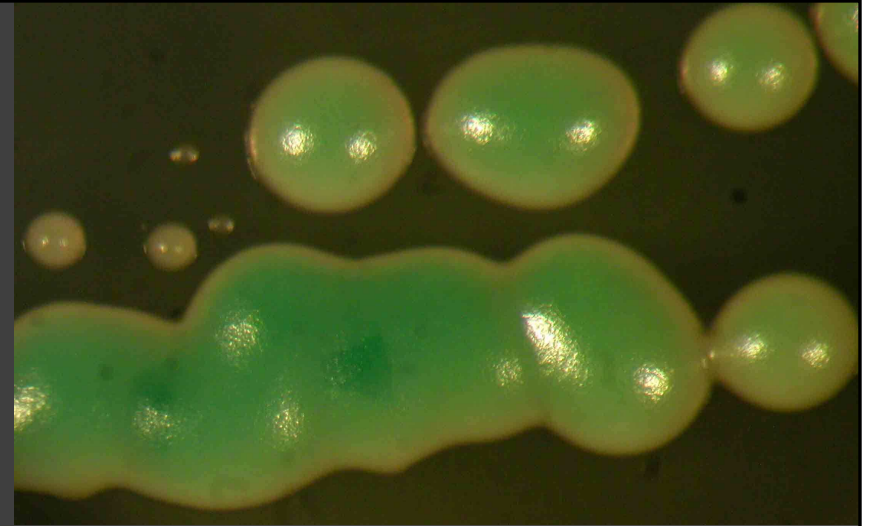


*Pneumocystis  
jiroveci*



*Mucor* sp.

# Rod *Candida* 1



- **Nejběžnější** houbový patogen
- Způsobuje **lokální** (kožní i slizniční) mykózy
- U oslabených způsobuje i **systemové** mykózy
- Častý výskyt ve střevě, většinou bez příznaků
- Akutní i chronické záněty pochvy a vulvy
- Nejběžnější je *Candida albicans*
- Dále *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* a další
- U některých typické **přirozené rezistence** (např. *C. krusei* na flukonazol)

# Rod *Candida* 2

- U kožní a slizniční formy se používají výtěry nejlépe v. transportní půdě **FungiQuick** nebo **C. A. T.** (u výtěrů z genitálií)
- U **systemové formy** také výtěry, anebo se zasílá krev, punktát apod.



C. A. T.

# Rod *Candida* 3

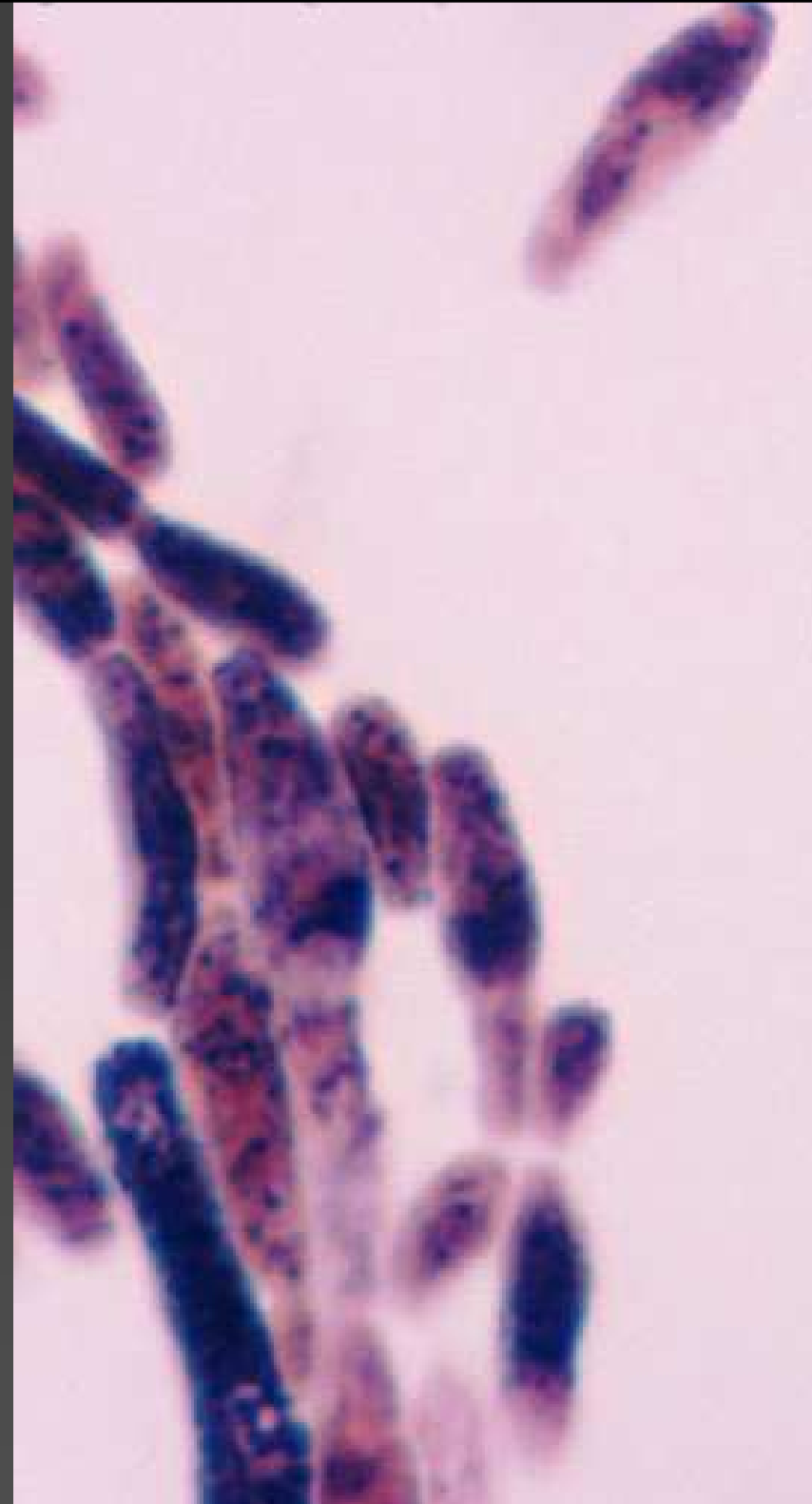
- Základem diagnostiky je **kultivace**. K identifikaci kandidy používáme chromogenní půdy a biochemické metody (využívají se vzájemné rozdíly v metabolismu mezi kandidami)
- **Mikroskopicky** v nativním preparátu (C. A. T.), v Gramově či Giemsově či jiném barvení vidíme oválné buňky, často pučící, někdy tzv. pseudomycélia
- Lze i testovat **in vitro citlivost**, ale testy jsou méně spolehlivé než u bakterií
- **Léčba**: antimykotika (lokálně, celkově)



# Některí další zločinci

Vpravo: *Geotrichum candidum*

Dole: *Rhodotorula rubra*





# Houby: nejběžnější diagnostické metody

- **Mikroskopie:** Stačí **nativní preparát**. Při **Gramově barvení** se zvláště kvasinky barví modře. Existují i speciální mykologická barvení.
- **Kultivace** využívá nejčastěji Sabouraudova agaru, nejběžnějšího mykologického média. Dále se používají různé chromogenní půdy.
- **Průkaz antigenu** se provádí např. u rodu *Candida* (průkaz mananových antigenů u podezření na fungémii)
- **Nepřímý průkaz** se stává čím dál důležitější, například u aspergilů

# Úkol 1: Popis kolonií na krevním agaru. Popište kmeny I až IV

- Přestože používáme pro houby speciální půdy, **mnohé houby rostou i na bakteriologických půdách**. A nejen to: některé, hlavně kandidy, volí rafinovaně podobu téměř nerozeznatelnou od kolonií bakteriálních
- **Rozeznat kolonie kandid od kolonií stafylokoků je někdy obtížné**. Pomoci může vůně (po chlebu či burčáku); když nepomůže nic jiného, volíme zpravidla nátěr (mikroskopii)

# Úkol 2: Gramovo barvení I až IV

- **Gramovým barvením** jasně odhalíme, co je kvasinka, a co (jaká) bakterie. Mimochodem, pokud by šlo jen o odlišení kvasinek, stačil by **nativní preparát** či jednoduché barvení.
- Pokud však mikrobiolog v praxi váhá např. mezi stafylokokem, kvasinkou a ještě gramnegativní nefermentující tyčinkou, je Gramovo barvení na místě k vyjasnění celé situace.

# Úkol 3: Selektivní půda – I až IV

- Typická půda pro kvasinky, **Sabouraudův agar**, není sama o sobě selektivní a mohly by na ní růst i mnohé bakterie
- Pro kultivaci na mykoorganismy ovšem používáme **Sabouraudův agar s antibiotiky**, který růst bakterií téměř vylučuje. (*V praxi ovšem narážíme na velmi drzé kmeny pseudomonád, které na veškerá antibiotika kašlou a rostou si kde chtějí 😊*)

# Úkol 4 – difúzní diskový test citlivosti na antimikrobiální látky

- Až na výjimky platí, že antibakteriální látky jsou u mykotických onemocnění... ehm... zkrátka na houby 😊
- Obdobně, **antimykotika nepůsobí na naprostou většinu bakteriálních agens**
- Tento fakt si můžeme demonstrovat ve čtvrtém úkolu
- **Všimněte si, že houby nekultivujeme na MH, ale na Sabouraudově agaru**

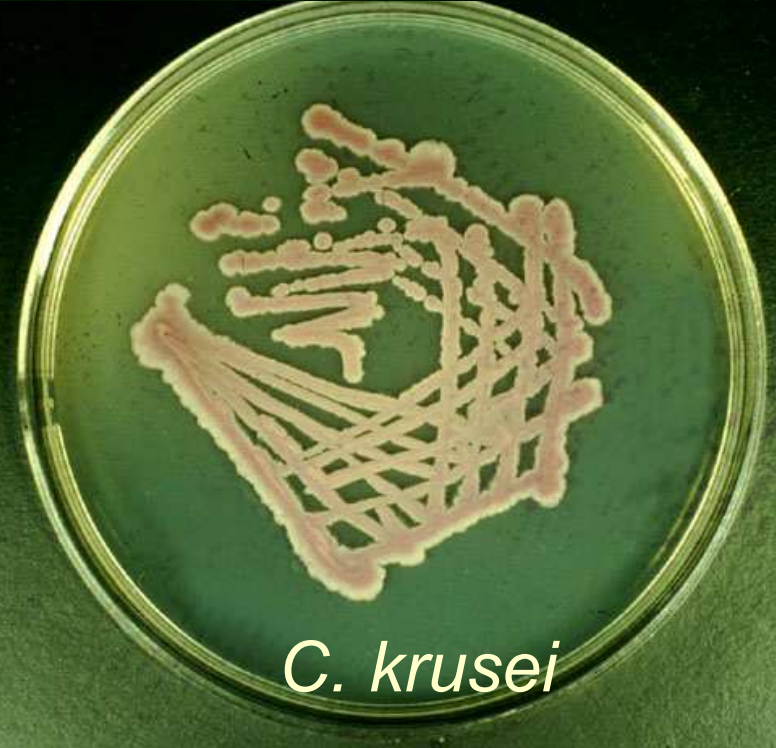
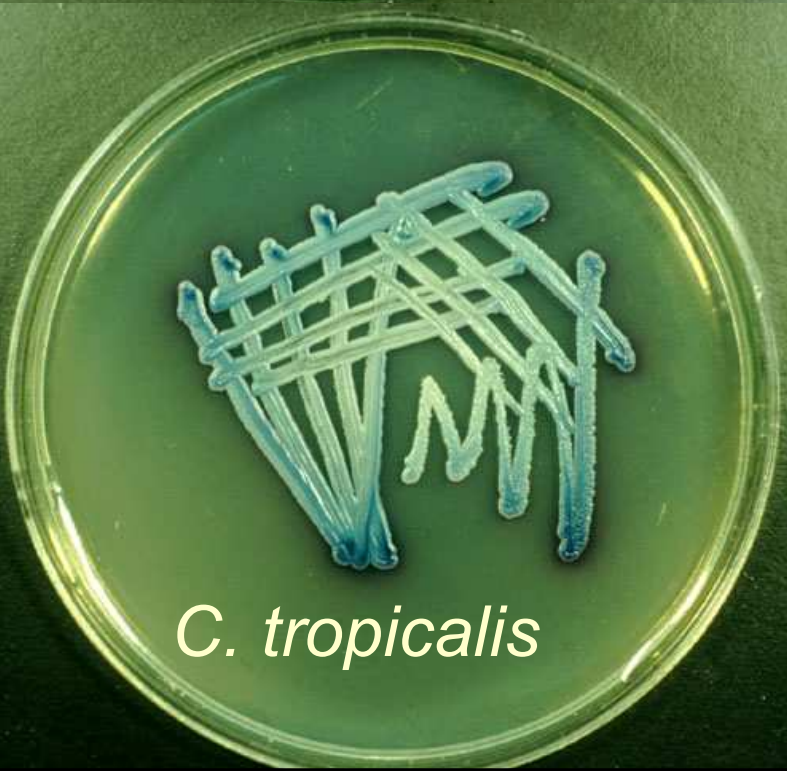
# Než přejdeme k úkolu 5: Co jsou to vlastně chromogenní půdy?

- **CHROMOGENNÍ** půdy obsahují látku, která je původně nebarevná (chromogen)
- Barevnost se objeví jen při specifické reakci (odštěpení substrátu)
- Půda může obsahovat více chromogenů s navázanými substráty specifickými pro různé bakterie nebo houby
- **FLUOROGENNÍ** půdy jsou principiálně podobné, ale s fluorescenčním barvivem

# Úkol 5 – chromogenní půda při diagnostice kandid

- Používají se různé chromogenní půdy. Některé odliší pouze *Candida albicans* od ostatních, jiné rozliší vzájemně několik druhů kandid.
- Budeme provádět pouze úkol 5 b, neboť Candiselect nemáme k dispozici. Na CHROMagaru je *C. albicans* zelenavá, *C. tropicalis* modrá, *C. glabrata* hladká růžová a *C. krusei* drsná růžová.







# Úkol 6 – biochemická identifikace kvasinek

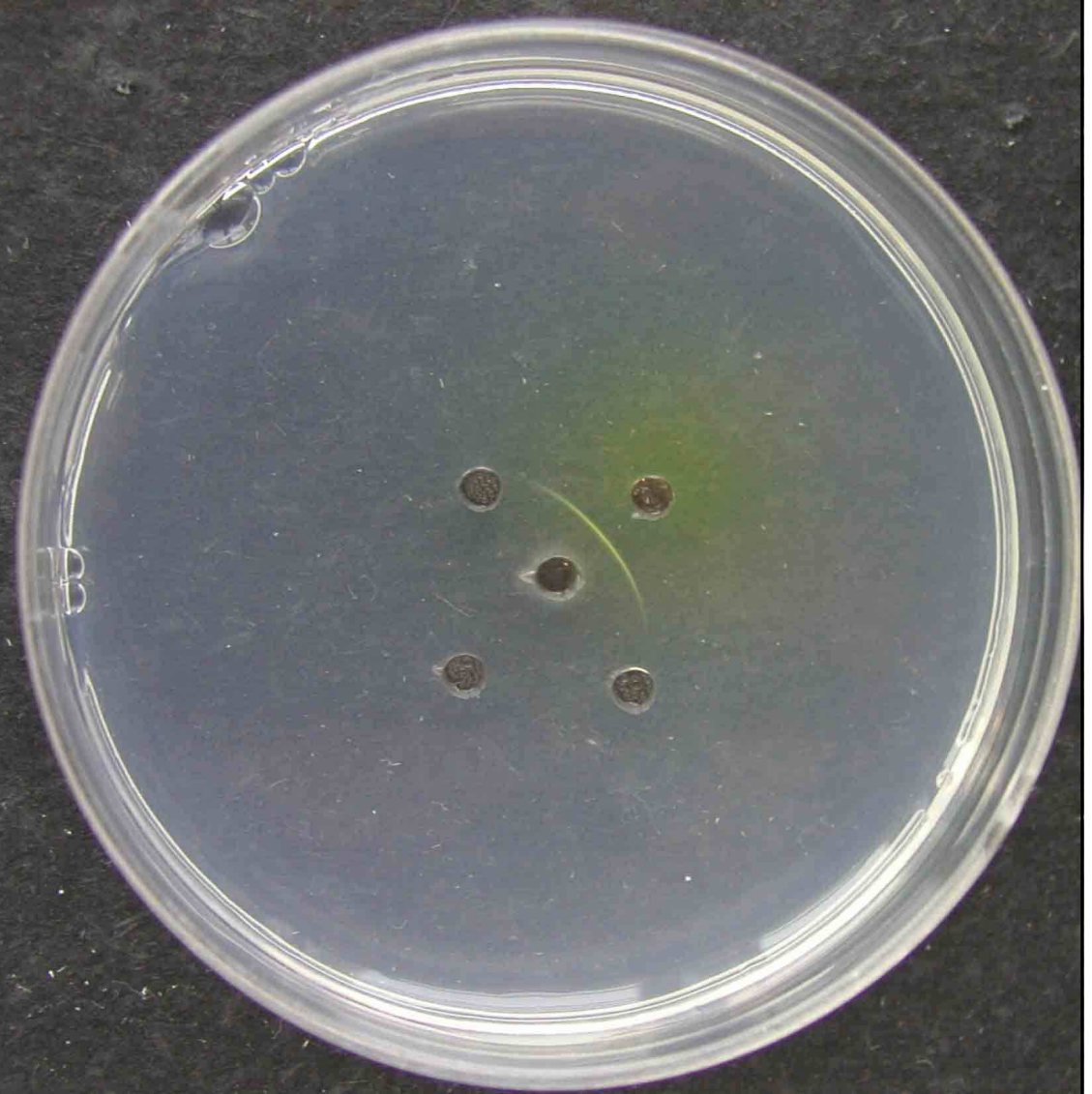
- Tak jako bakterie, i kvasinky (ne však vláknité houby) se dají **identifikovat biochemicky**. (Však ostatně i použití chromogenní půdy je založeno na selektivním štepení různých substrátů.)
- Pokuste se **určit předložené kmeny** pomocí přiloženého návodu a porovnání s tabulkou.

# Úkoly 7 a 8 – mikroskopie a kultivace vláknitých hub

- Diagnostika vláknitých hub se poněkud liší od diagnostiky kvasinek. Povšimněme si některých rozdílů:
  - **Mikroskopie** tu má větší význam. Lze pozorovat různé typy spor a konidií
  - **Vzhled výsledků kultivace** je značně odlišný, jak na Sabouraudově agaru, tak případně i na agaru krevním. Některé z nich, zejména dermatofyty, rostou velmi pomalu. To kvůli nim se Sabouraudův agar nalévá do zkumavek.
  - **Biochemické rozlišení** se u nich, na rozdíl od kvasinek, neuplatňuje.

# Úkol 9 – nepřímý průkaz mykóz

- Jednou z mnoha možností, jak jej provádět, je **mikroprecipitace v. agaru**. Probírali jsme ji už v tématu J 07. Precipitační linie se tvoří mezi důlkem s antigenem a důlkem s protilátkou.





# Nashledanou při dalším dílu!

Dnes použity obrázky z [www.medmicro.info](http://www.medmicro.info) a za Zahradníčkova internetového archivu (bohužel si při stahování ten blbec zapomněl zapisovat adresy)

