

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

- 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

Povrchové mykózy :

- postihují kůži, nehty, sliznici úst a pochvy
- většinou endogenní, přenos i pohlavním stykem

Candida (albicans) – komenzál

Malassezia furfur (kožní infekce *pityriasis versicolor*)

Systemové mykózy

(mykózy postihující vnitřní orgány a orgánové systémy)

Původci: (*Cryptococcus*, *Candida*)

- imunodeficientní pacienti
- pacienti po transplantaci

- Vlastnosti patogenů: Mannan (stěnový polysacharid) u kandid a mukopolysacharid pouzdra u *Cryptococcus neoformans* – potlačují buněčnou imunitu

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, sladidlový 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)

zymogram – test na zkvašování cukrů

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)

- **Příklady antimykotik**
- **perorálně:** ketokonazol, terbinafin
- **parenterálně:**
 - amfotericin B, mikonazol...
 - (malá vstřebatelnost z trávicího ústrojí)
- **parenterálně i perorálně:**
 - flukonazol, itrakonazol, flucytozin...

azolové deriváty

a) 2-nitroimidazoly :

klotrimazol

mikonazol

ketokonazol

b) triazoly :

itrakonazol (kandidózy, kryptokokózy)

flukonazol (perorálně – kryptokoková meningitida)

- existuje primární i získaná rezistence k azolovým sloučeninám

kyselina benzoová

(Whitfieldova mast) – povrchové mykózy

polyeny

– toxické, ukládají se v nově tvořeném keratinu

nystatin (kandidózy)

amfotericin B (kandidózy, kryptokokózy)

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 Corn
meal agar MIMC-4TMB



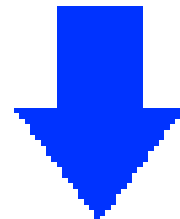
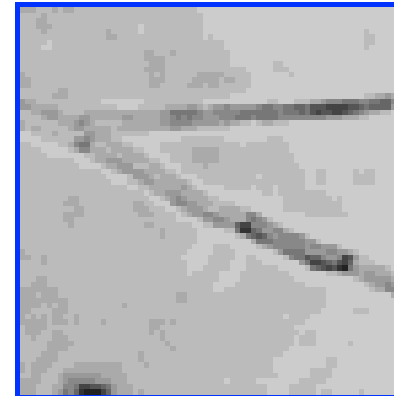
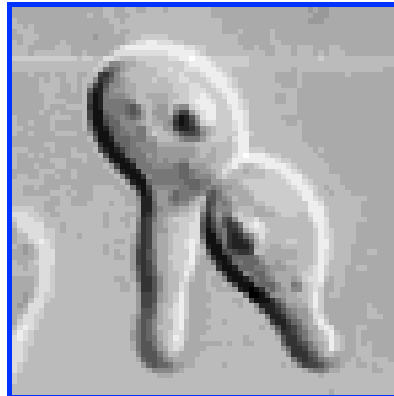
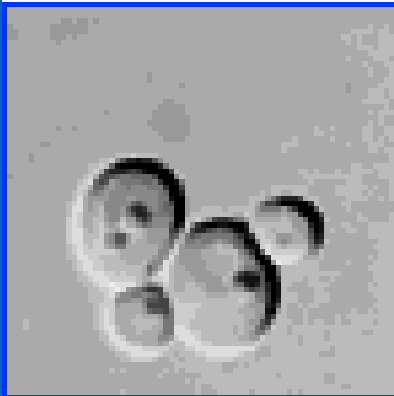
25°C

Yeast
Levures

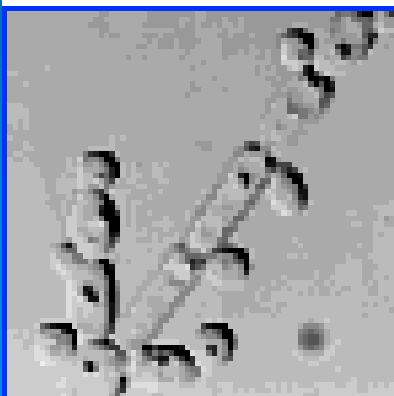
37°C



Hypha
Hyphes



37°C



Pseudohyphae
Pseudohyphes



Candida albicans
Sabouraudov agar



Identifikace:

- **Sabouraudův glukózový agar** – kvasinková fáze (oválné buňky, 3-8 μm), kolonie za 1-2 dny při 25–37°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



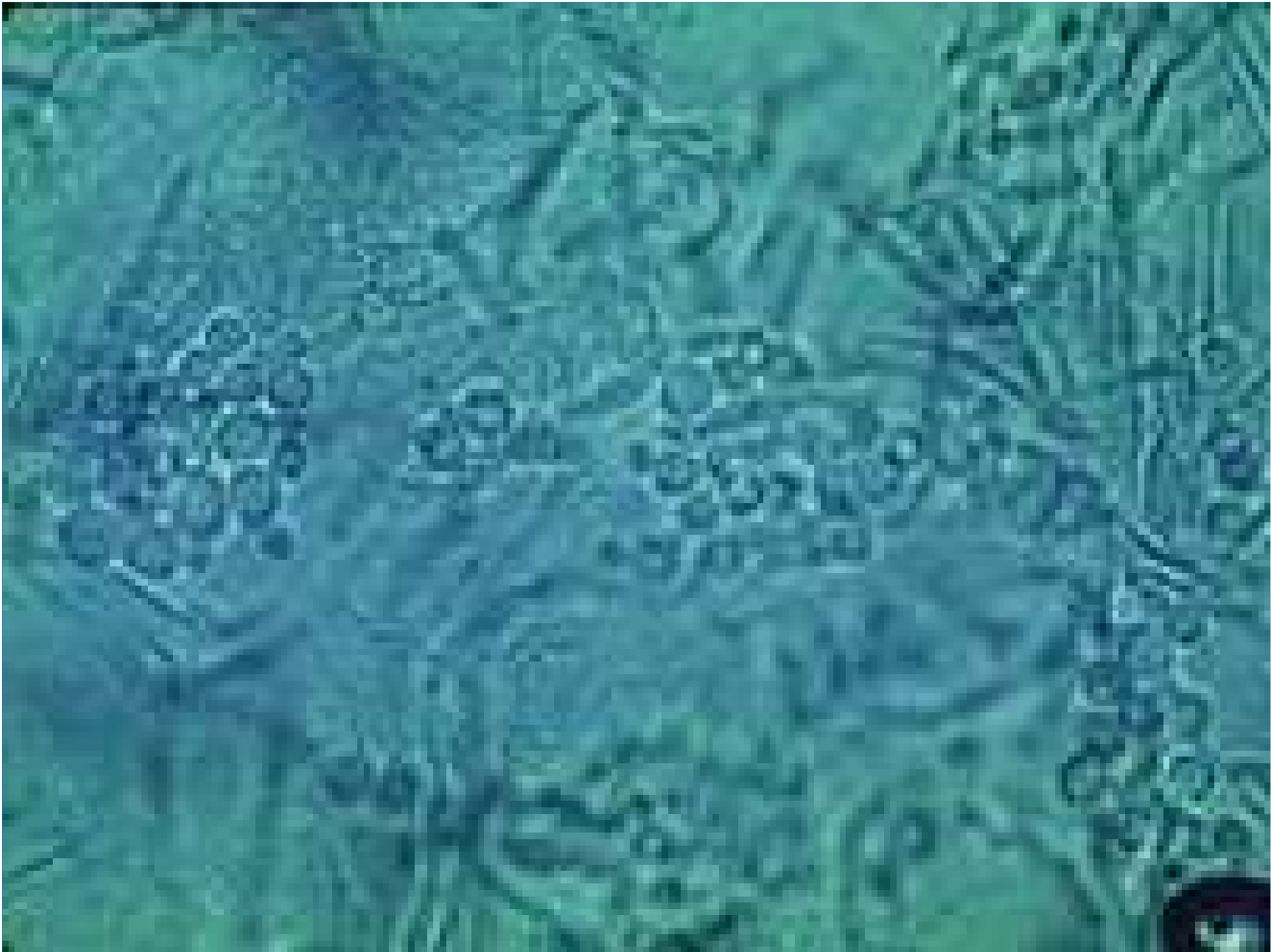
Pityriasis versicolor

- 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





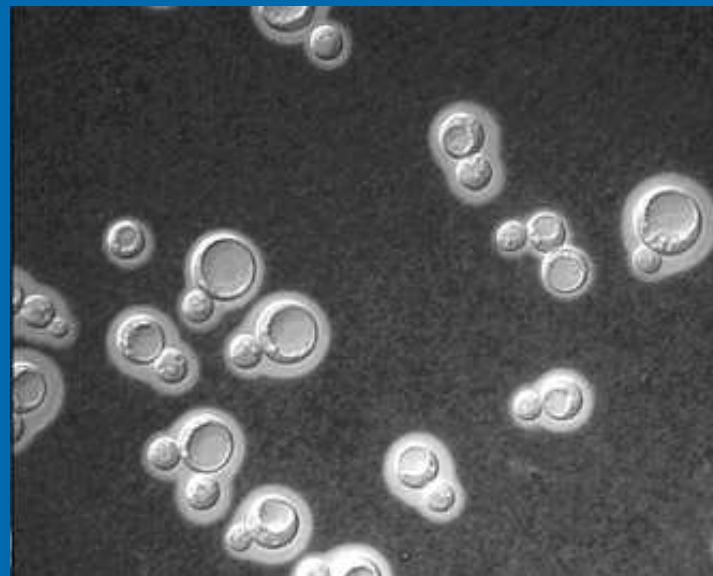
Systemové mykózy

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

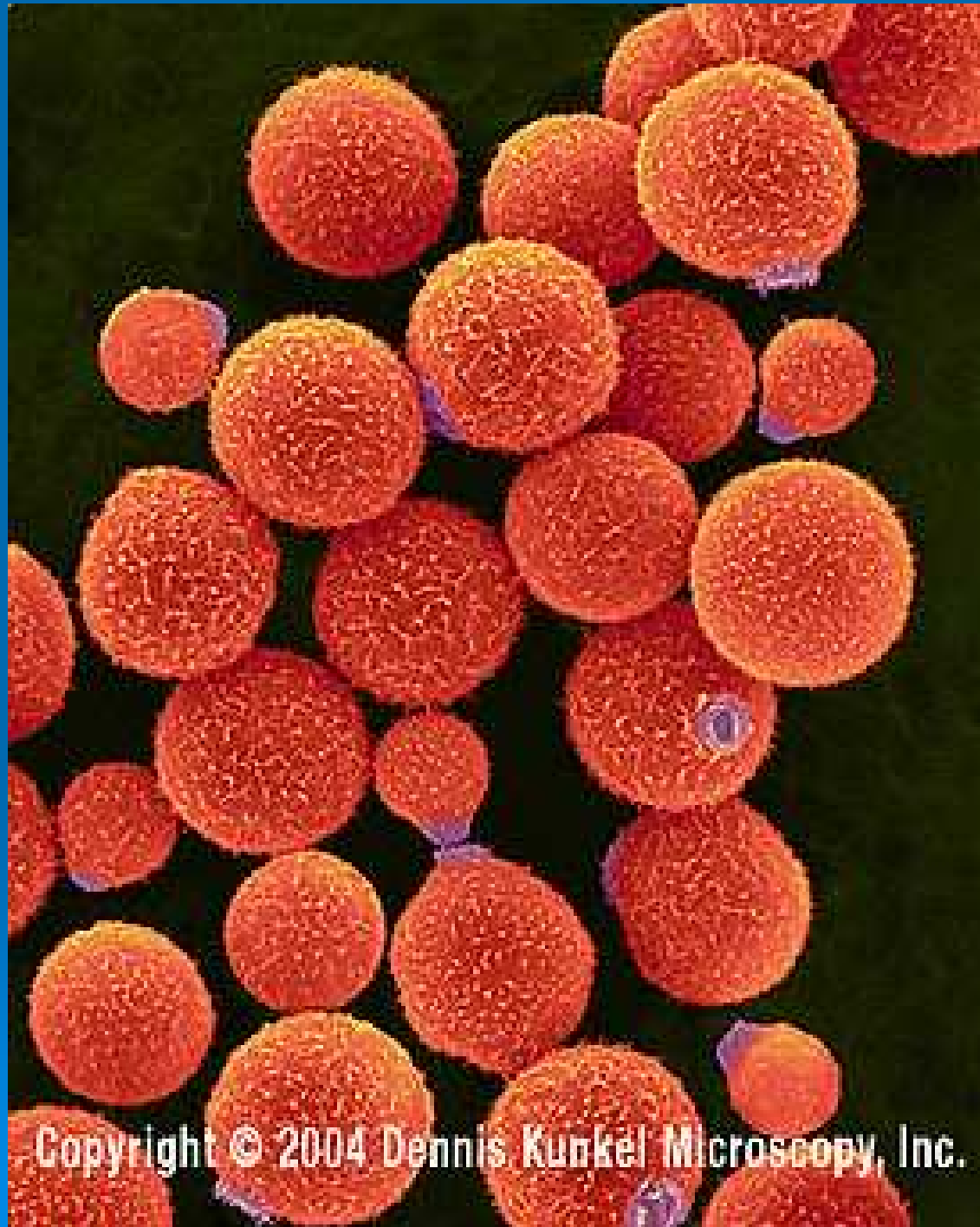


Kožní infekce



Fázový kontrast





Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



Průkaz:

mikroskopicky: v mozkomíšním moku a dalším klinickém materiálu - kulovité buňky 2–10 μm s mukopolysacharidovým **pouzdrém** (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



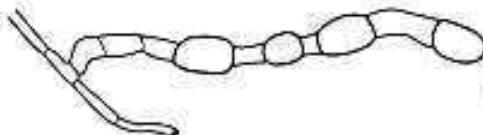
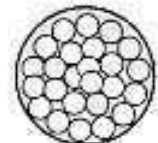
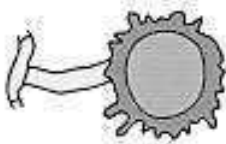
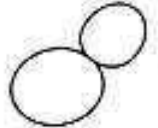
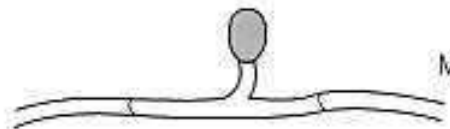


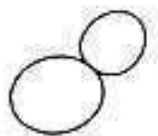
vláknitá fáze

- 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

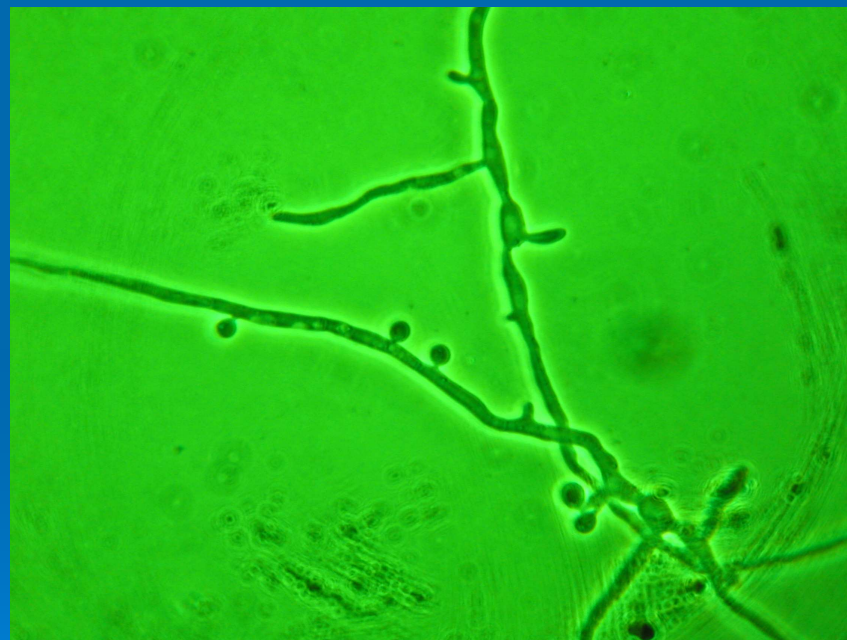
Dimorfní patogenní kvasinky

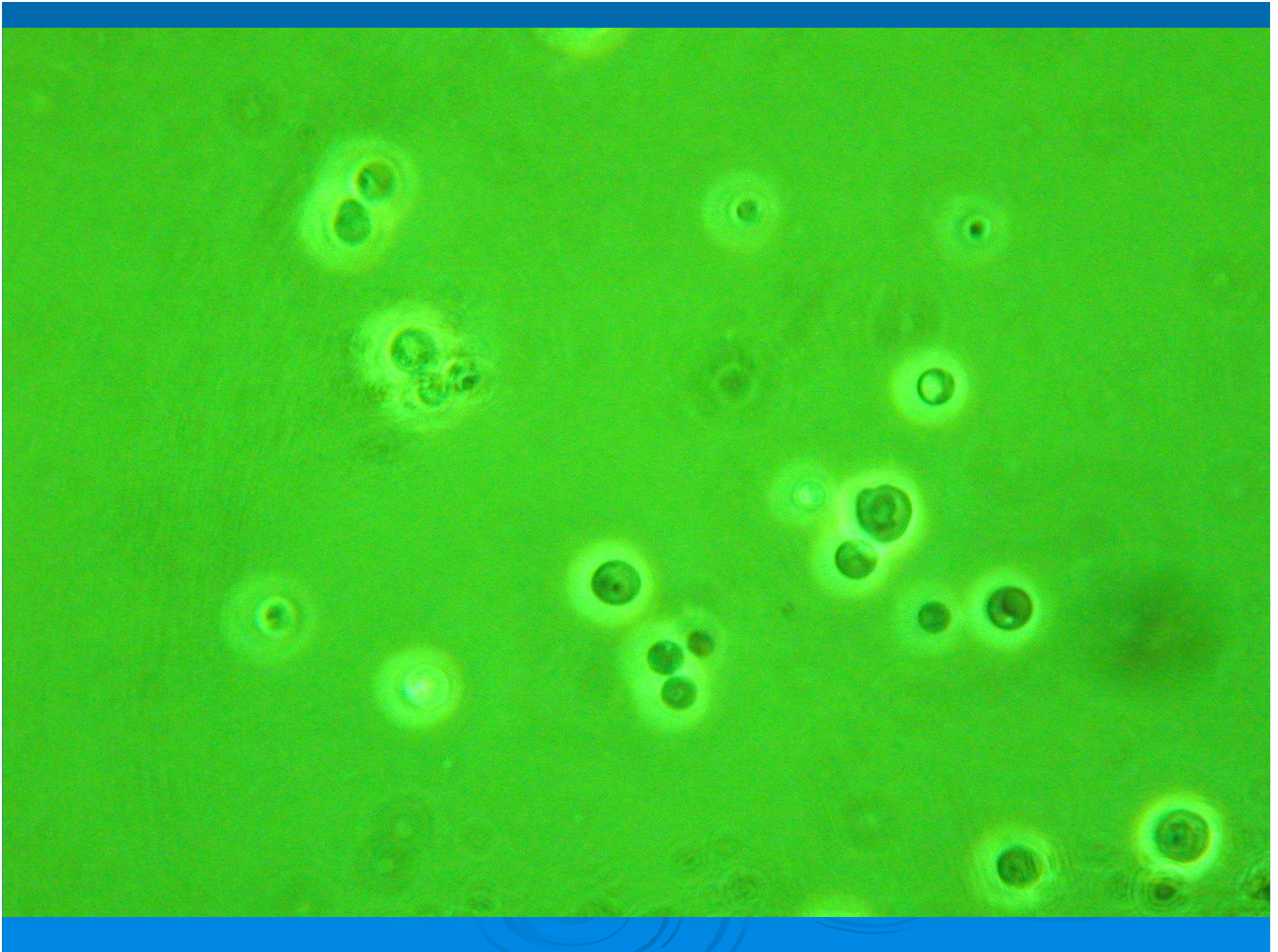
Fungus	In vitro (25° C)	In vivo (37° C)
<i>Blastomyces</i>	 Mold	 Yeast
<i>Coccidioides</i>	 Mold	 Spherule
<i>Histoplasma</i>	 Mold	 Yeast
<i>Paracoccidioides</i>	 Mold	 Yeast
<i>Sporothrix</i>	 Mold	 Yeast

Blastomykóza, kokcidiomykzá, sporotrichóza etc.

Sporothrix schenckii

buňky ve fázovém kontrastu – hyfy a konídie





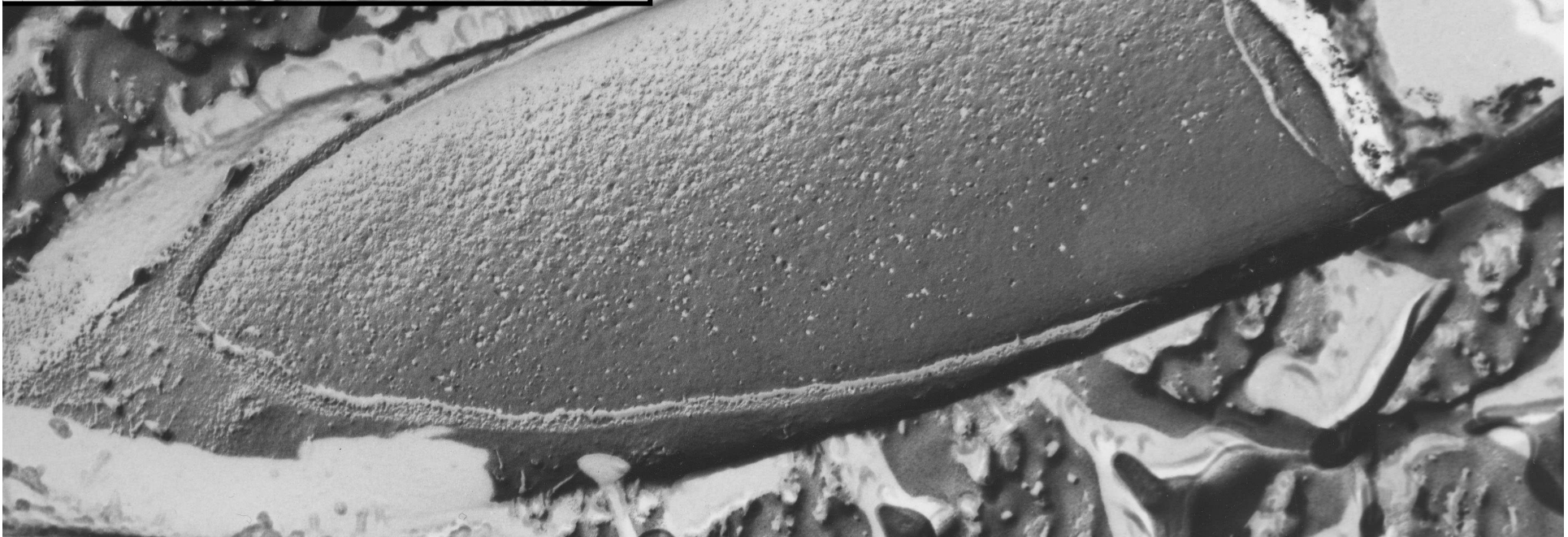
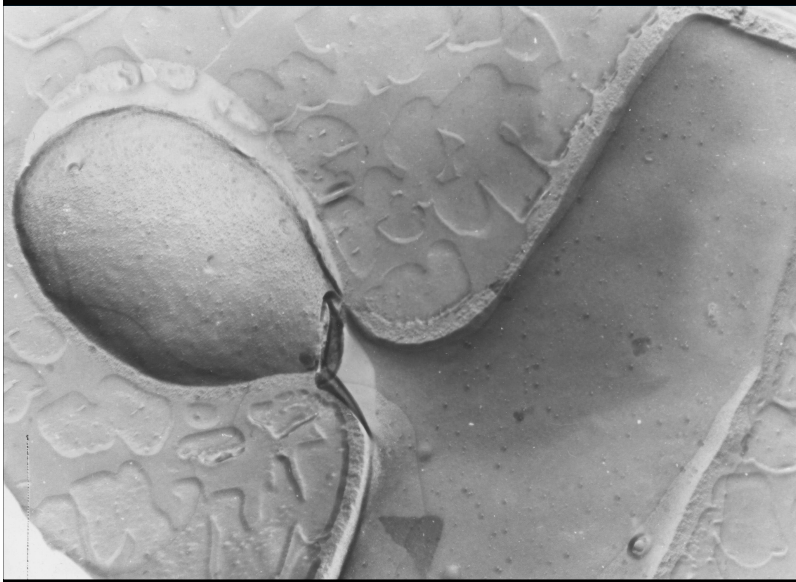
Sporothrix schenckii

studie buněk freeze fracture technikou

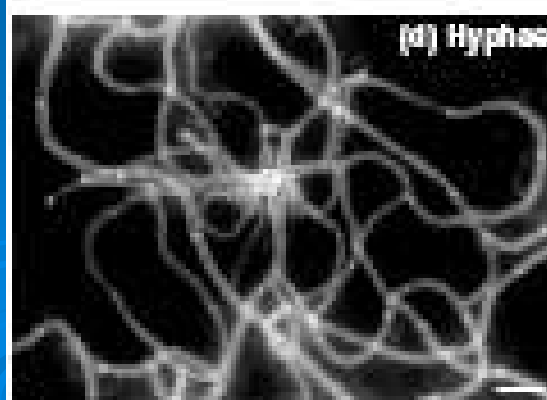
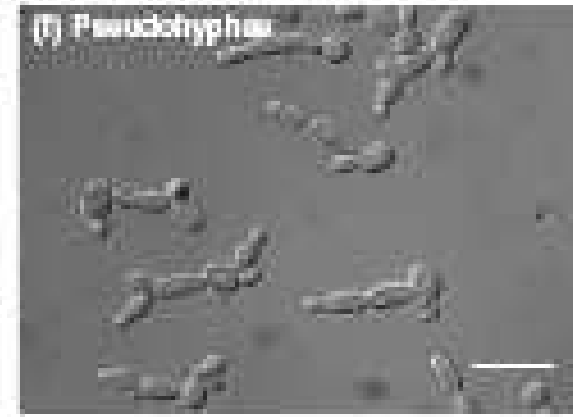
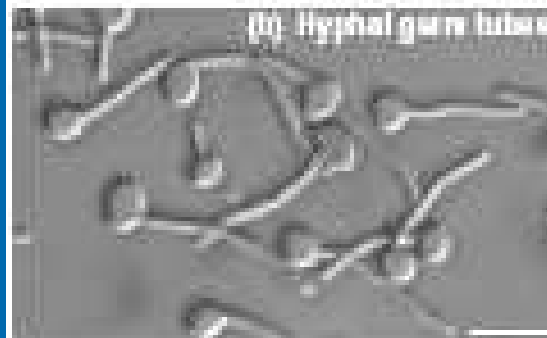
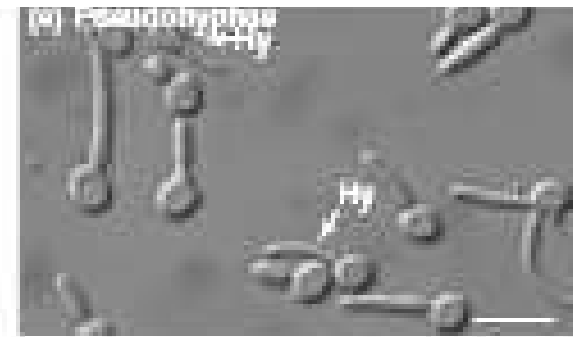
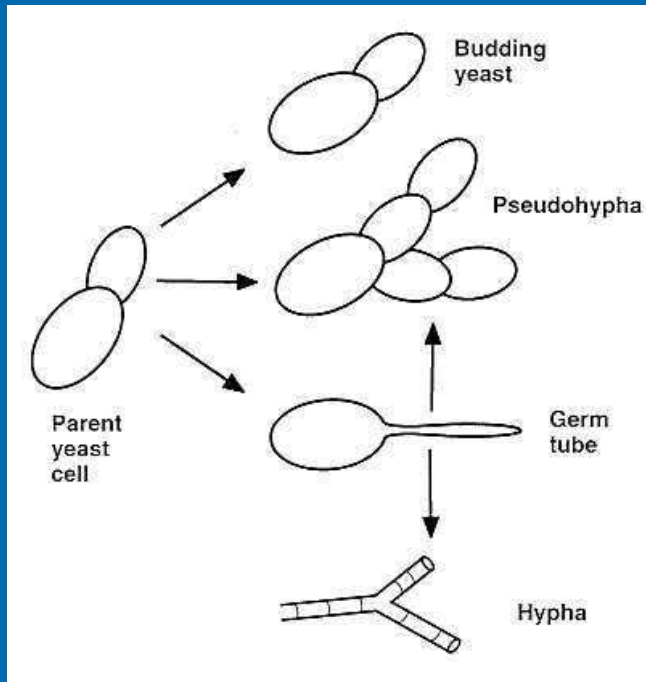


Sporothrix schenckii

studie buněk freeze-fracture technikou

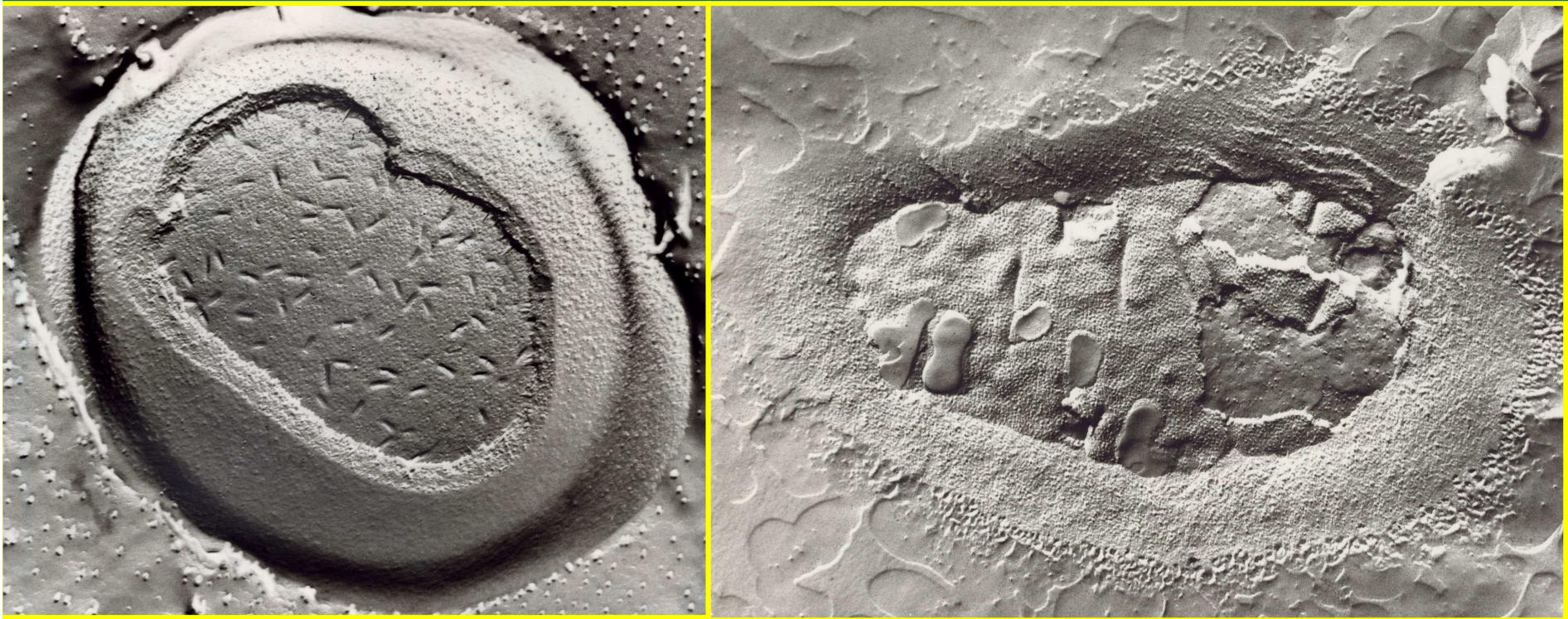


Candida albicans



Candida albicans

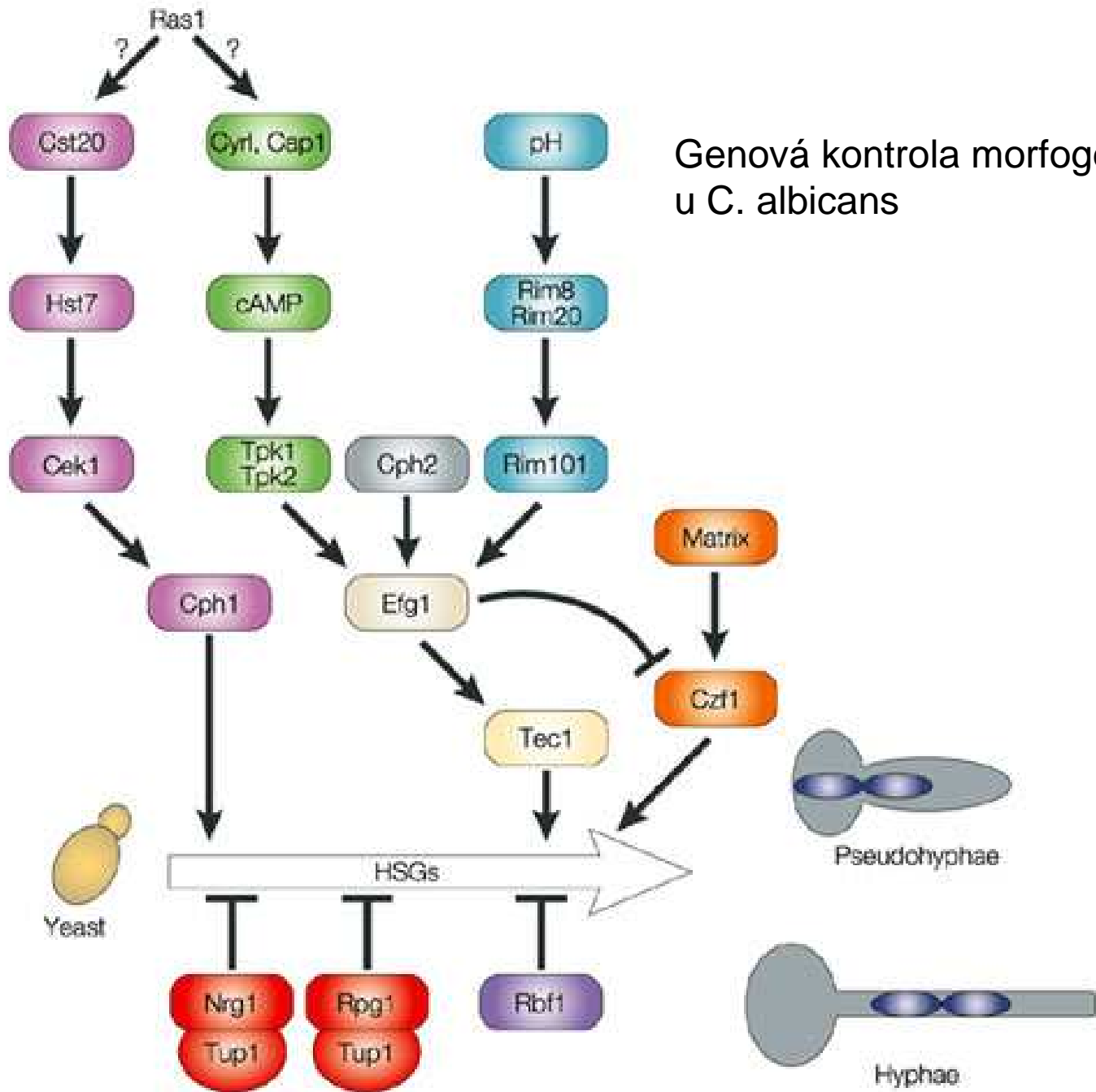
studium vlivu antibiotika nystatinu na morfologii
plasmatické membrány



8



Genová kontrola morfogeneze u *C. albicans*



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

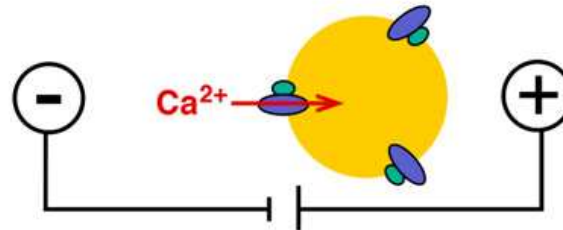
Localized Ca^{2+} -channel activation caused by localized changes in membrane potential or membrane stretch, results in calcium influx that directs polarized growth

A Galvanotropism

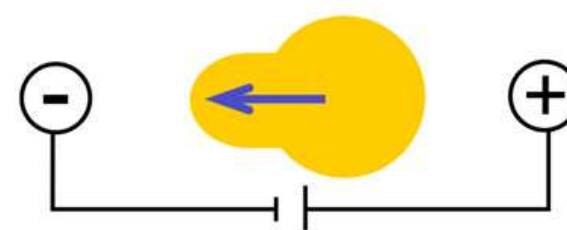
Mid1-Cch1p complex



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



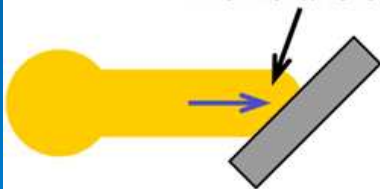
Electric field depolarizes membrane
at cathodal face, activating Cch1p.



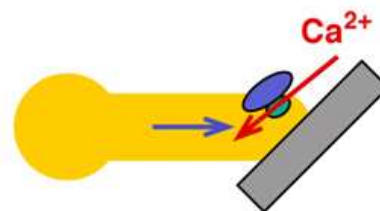
Localized Ca^{2+} influx via Cch1p
establishes axis of cell polarity.
Germ tube emergence is cathodal.

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

