

# 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 ústředních 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

Aspergillosis (Aspergillus sp.)

Blastomycosis (Blastomyces sp.)

Candidiasis (Invasive) (Candida sp.)

Coccidioidomycosis

Cryptococcosis (Cryptococcus sp.)

Histoplasmosis (Histoplasma caps)

Mucormycosis (Mucor)

Paracoccidioidomycosis

Sporotrichosis (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 bránou infekce
- stavu imunitního systému hostitele

## ➤ endogenní infekce (autoinfekce) zdrojem jsou komenzální mikroorganismy . při porušení homeostázy, vnímavosti a rezistence

## ➤ povrchové mykózy . nakažlivé

N které 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
  - kultivace průkaz
  - sérologické metody

# Mikroskopický průkaz

**povrchové mykózy** - zupinky kůže, části nehtů, sezkrabky kůže s vlasovými kořínky a kožními zupinami

**kandidóza** . střešní sliznic

**systemové infekce** . vzorky tkání z více míst

## **p ímá mikroskopie:**

- ve vlhkých preparátech po natrávení tkán 10-20% hydroxidem draselným
- infekce sliznic . Gramovo barvení
- morfologie bun k

## **histologické vyšet ení**





# kultivace

- v tuzina kvasinek snadno kultivovatelná
- Sabouraud v agar  
(glukóza, sladidový agar, hydrolyzát kaseinu + chloramfenikol nebo amikacin + vankomycin)
- Czapek . Doks v agar
- souasn p i 25 . 30°C a 37°C
- doba kultivace 1 . 5 dn



- kvazení cukr a další biochemické testy

(identifika ní soupravy)

**auxanogram** . test na asimilaci cukr a dusíkatých látek (zdroj C)

**zymogram** . test na zkvazování cukr



# sérologie

Průkaz specifických protilátek:  
(protilátková odpověď slabá)

- ELISA



# Antimykotika:

kvasinky - eukaryontní buňky  
antibakteriální antibiotika jsou neúčinná

Terapeutické struktury antimykotik:

buněčná stěna

plasmatická membrána

cytoskelet

**Antimykotika**  
(hostitele)

toxický účinek na

An antifungal agent is a drug that selectively eliminates fungal pathogens from a host with minimal toxicity to the host.

### **Polyene Antifungal Drugs**

Amphotericin, nystatin, and pimaricin interact with sterols in the cell membrane (ergosterol in fungi, cholesterol in humans) to form channels through which small molecules leak from the inside of the fungal cell to the outside.

### **Azole Antifungal Drugs**

Fluconazole, itraconazole, and ketoconazole inhibit cytochrome P<sub>450</sub>-dependent enzymes (particularly C14-demethylase) involved in the biosynthesis of ergosterol, which is required for fungal cell membrane structure and function.

### **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.

- **P íklady antimykotik**

- **peroráln** : ketokonazol, terbinafin

- **parenteráln** :

  - amfotericin B, mikonazolõ

  - (malá vst ebatelnost z trávicího ústrojí)

- **parenteráln i peroráln** :

  - flukonazol, itrakonazol, flucytozinõ



# azolové deriváty

## a) 2-nitroimidazoly :

klotrimazol

mikonazol

ketokonazol

## b) triazoly :

itrakonazol (kandidózy, kryptokokózy)

flukonazol (peroráln . kryptokoková meningitida)

- existuje primární i získaná rezistence k azolovým sloučeninám

# kyselina benzoová

(Whitfieldova mast) . povrchové mykózy

# polyeny

. toxické, ukládají se v nov tvo eném keratinu

**nystatin** (kandidózy)

**amfotericin B** (kandidózy, kryptokokózy)



griseofulvin . proti dermatofyt m

imidazoly

kyselina nalidixová

fluoropyrimidiny

kandicidin

další látky toxické v i kvasinkám:

jodid draselný, kyselina boritá, bazická  
barviva

**kombinace antimykotik:**

# Povrchové mykózy

## Povrchová kandidóza:

- postižení kůže, nehtů, sliznic úst a pochvy (infekce sliznic . smou nivka%)
- 80 . 90% *Candida albicans*, zbývající případy další druhy (*C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* )
- 20% lidské populace . *C. albicans* sou část komensální flóry pokožky a sliznic
- výskyt závisí na stavu organismu . bakteriální i virová infekce, t hotenství, aj

*Candida albicans* - Corn  
meal agar, MMEC-4TMB



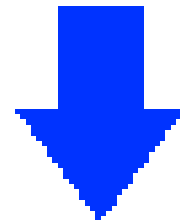
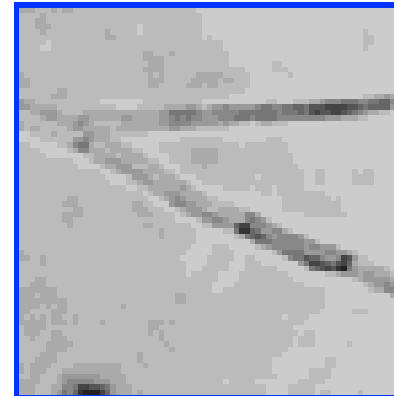
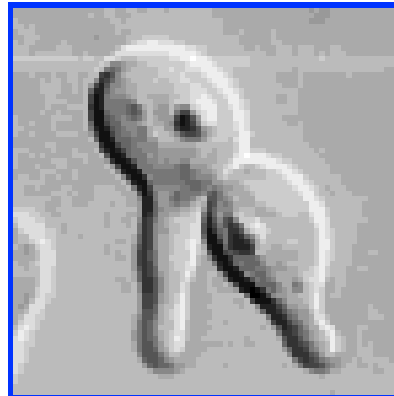
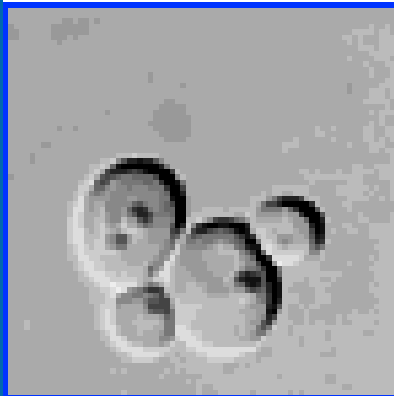
25°C

**Yeast**  
Levures

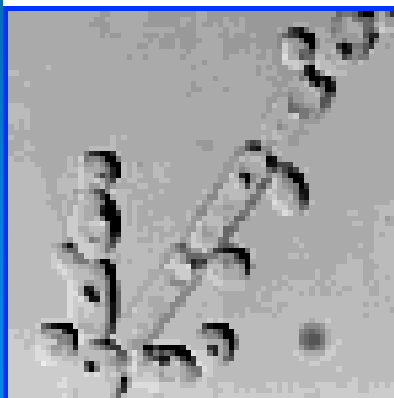
37°C



**Hypha**  
Hyphes



37°C



**Pseudohyphae**  
Pseudohyphes





Candida albicans  
Sabouraud v agar



## Identifikace:

- Sabouraud v glukózový agar . kvasinková fáze (oválné buňky, 3-8  $\mu$ m), kolonie za 1-2 dny při 25°C
- *in vivo* . sm s 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 cukru a zdroj dusíku

## Léčení:

- **lokální terapie** nystatinem, amfotericinem B, mikonazolem
- **vaginální kandidóza** . azolové deriváty, azolové pozevní tablety u recidivujících případů

# infekce sliznic:

- nej častěji 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 tíslech, mezi prsty, v podpační jamce, pod prsy (v místech vlhké zapáky)
- postižení nehtu a nehtového lóka . při astém má ení rukou (ozet ovatelky, myky nádobí)





## Mykotické plaky na zubech

P vodce: v tzinou *Candida albicans*, souvislost se stravovacími návyky



# *Pityriasis versicolor*

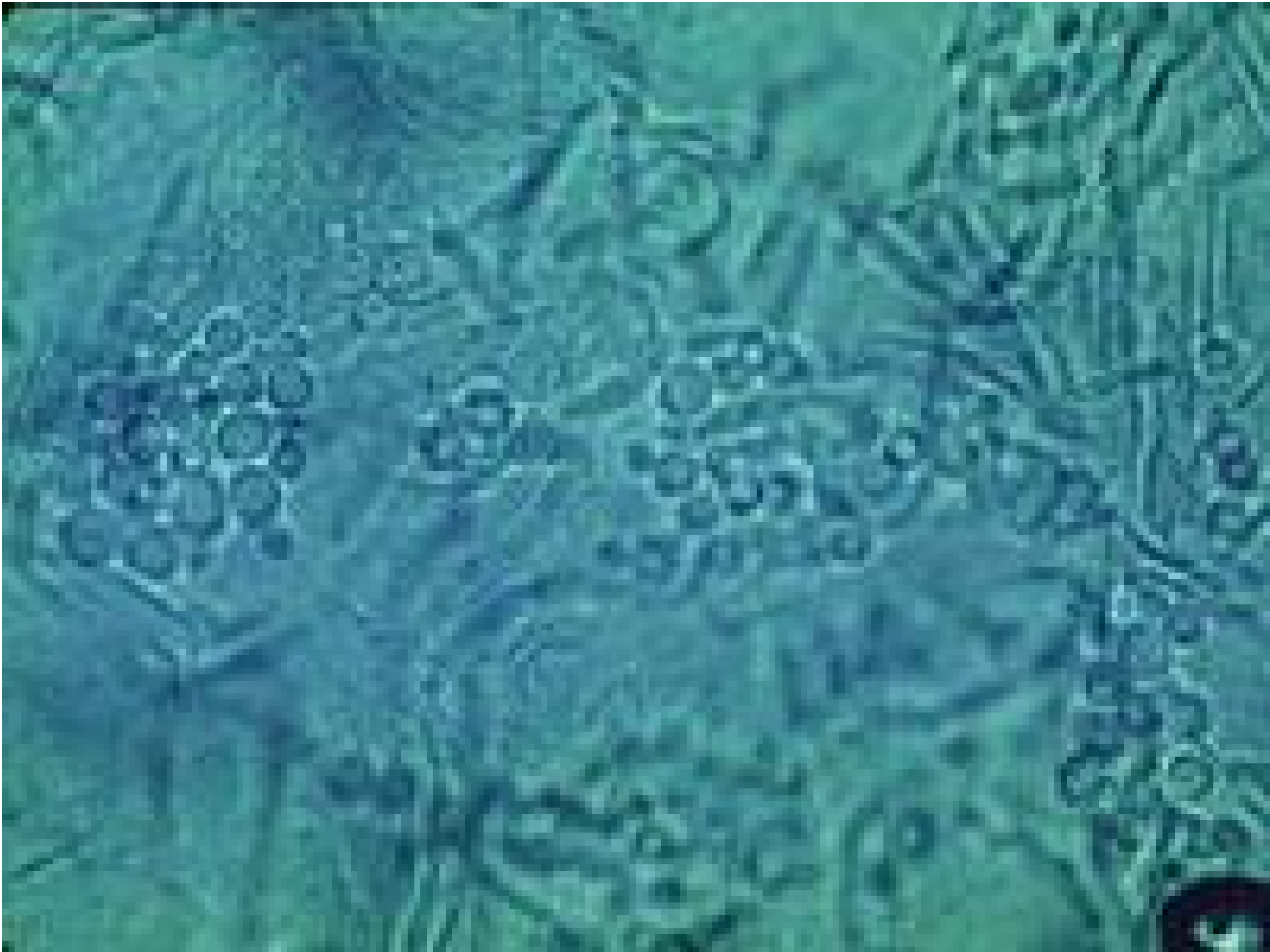
- chronická infekce způsobená lipofilní ***Malassezia furfur***
- odbarvené skvrny na kůži

## ***M. furfur***

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







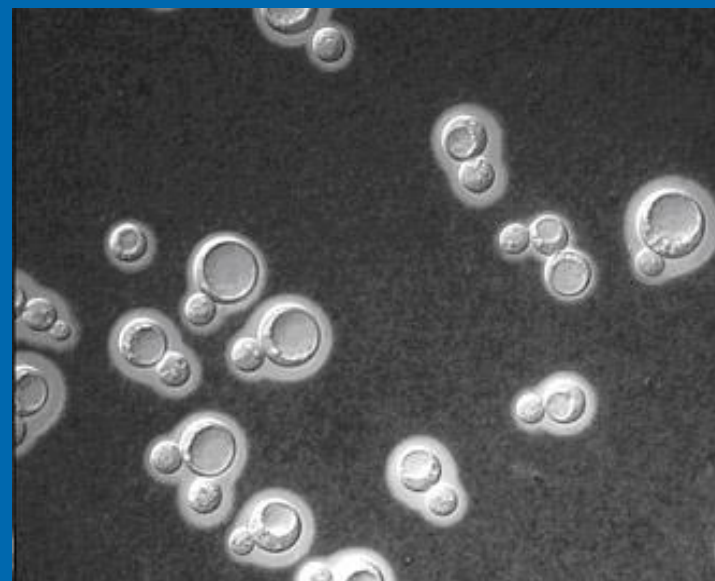
# Systemové mykózy

## Kryptokokóza:

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



Koňní infekce



Fázový kontrast

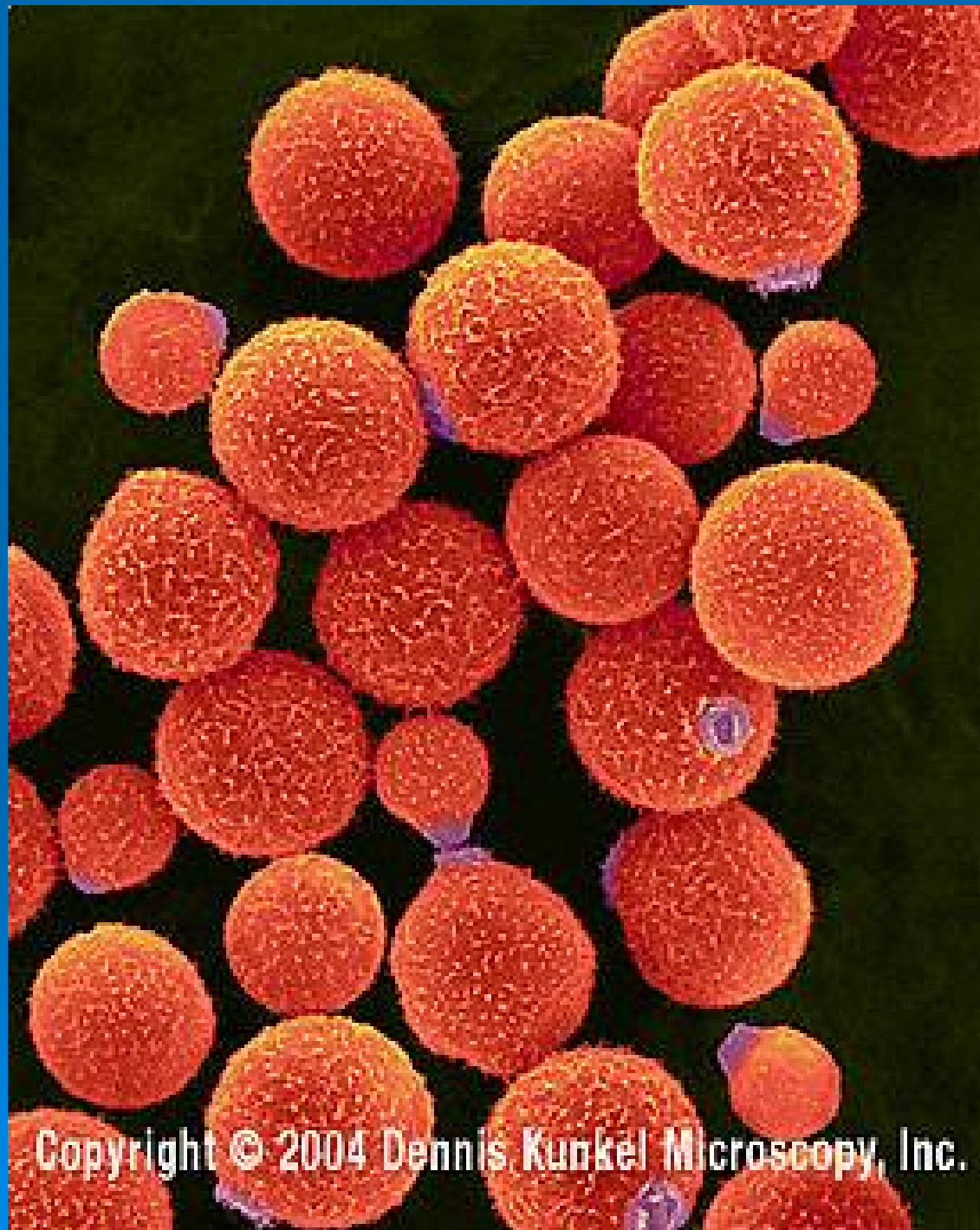


Pouzdro



Basidiospores





Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



## Průkaz:

**mikroskopicky:** v mozkomízním moku a dalším klinickém materiálu - kulovité buňky 2-10 μm s mukopolysacharidovým **pouzdrém** (až 60 % izolát) . po smízení mozkomízního moku s tužící se pouzdro jeví jako jasný dvorec kolem buněk

**kultivace:** - na Sabouraudově agaru při 25, 30°C a 37°C za 2-3 dny

- smetanovité bílé až olivohnědé mukózní kolonie (neopouzdržené kmeny - suché)

- netvoří pseudomycelium ani mycelium

- nefermentuje cukry, silná produkce ureázy, asimilace inozitolu

# ***Blastoschizomyces capitatus***

(dříve *Trichosporon capitatum*)

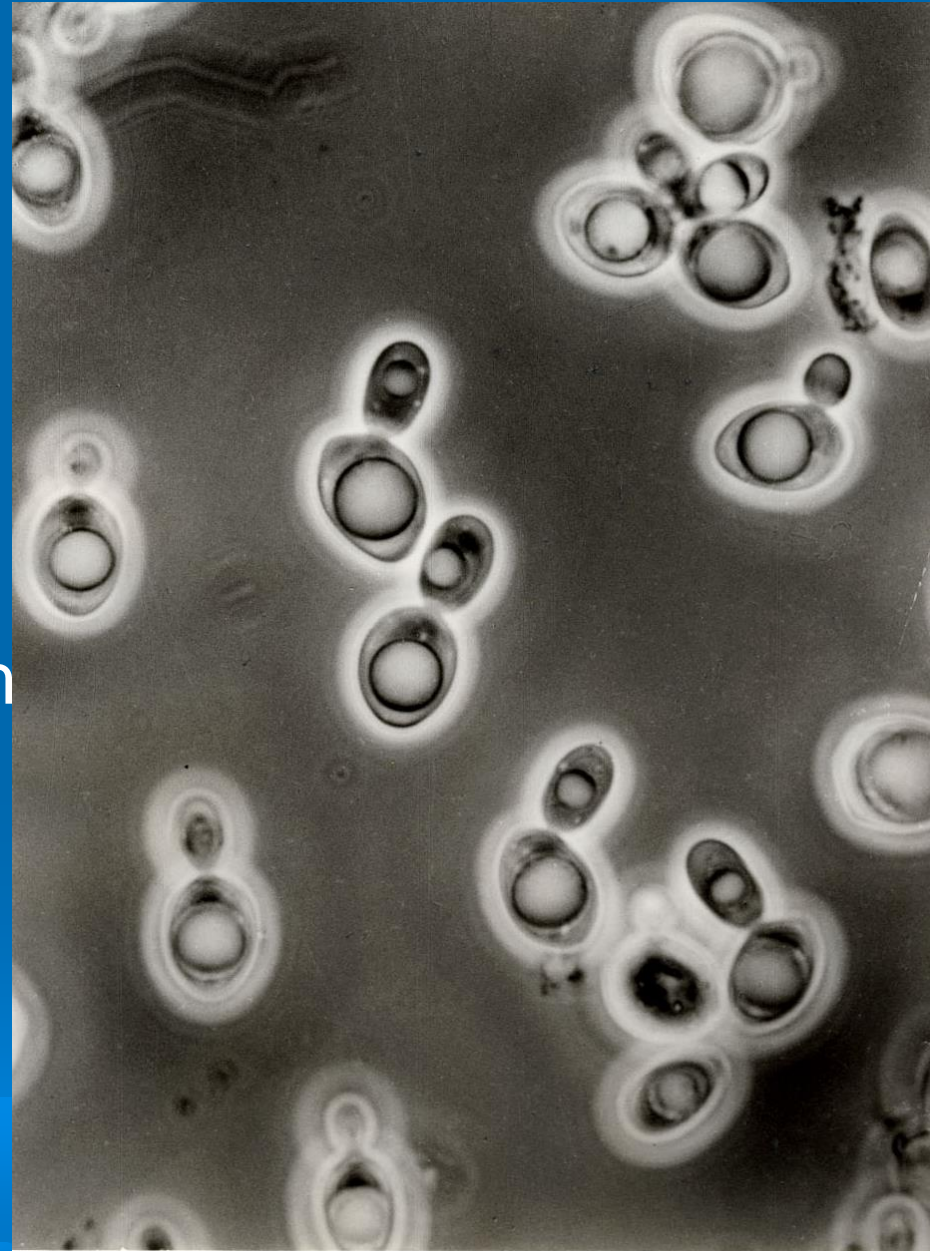
- diseminované infekce
  - oslabení neutropenií pacienti se zhoubnými lymfomy
- asimilace pouze glukózy a galaktózy

# ***Geotrichum candidum***

- infekce u diabetik ,  
imunosuprimovaných osob

# *Saccharomyces cerevisiae*

- sepsse a plicní infekce
- p vodce vaginálních mykóz (8,5 %)



# *Rhodotorula*

- barevné kolonie (oranžové, červené)
- neasimiluje inositol



# Dimorfní houby



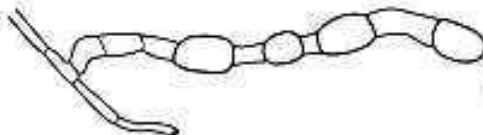
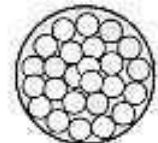
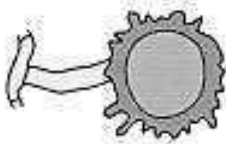
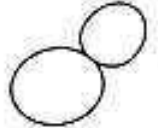
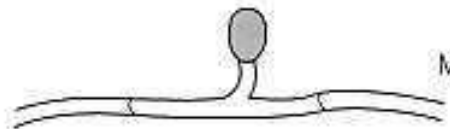


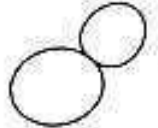
## vláknitá fáze

- v tizinou saprofytická (pr ník p es k 0i a sliznice)

## kvasinková fáze

- infek ní (hluboké infekce tkání a orgán )
- **kvasinkový** r st podporují bohat jí p dy (krevní agar) a teplota 35. 37°C
- tvorba **hyf** . teplota 25. 30°C

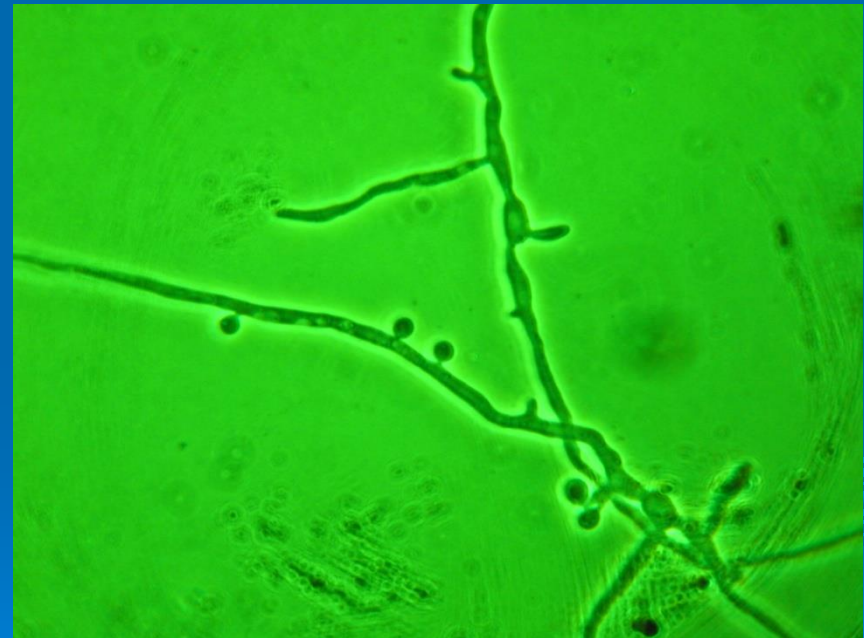
# Dimorfní patogenní kvasinky

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

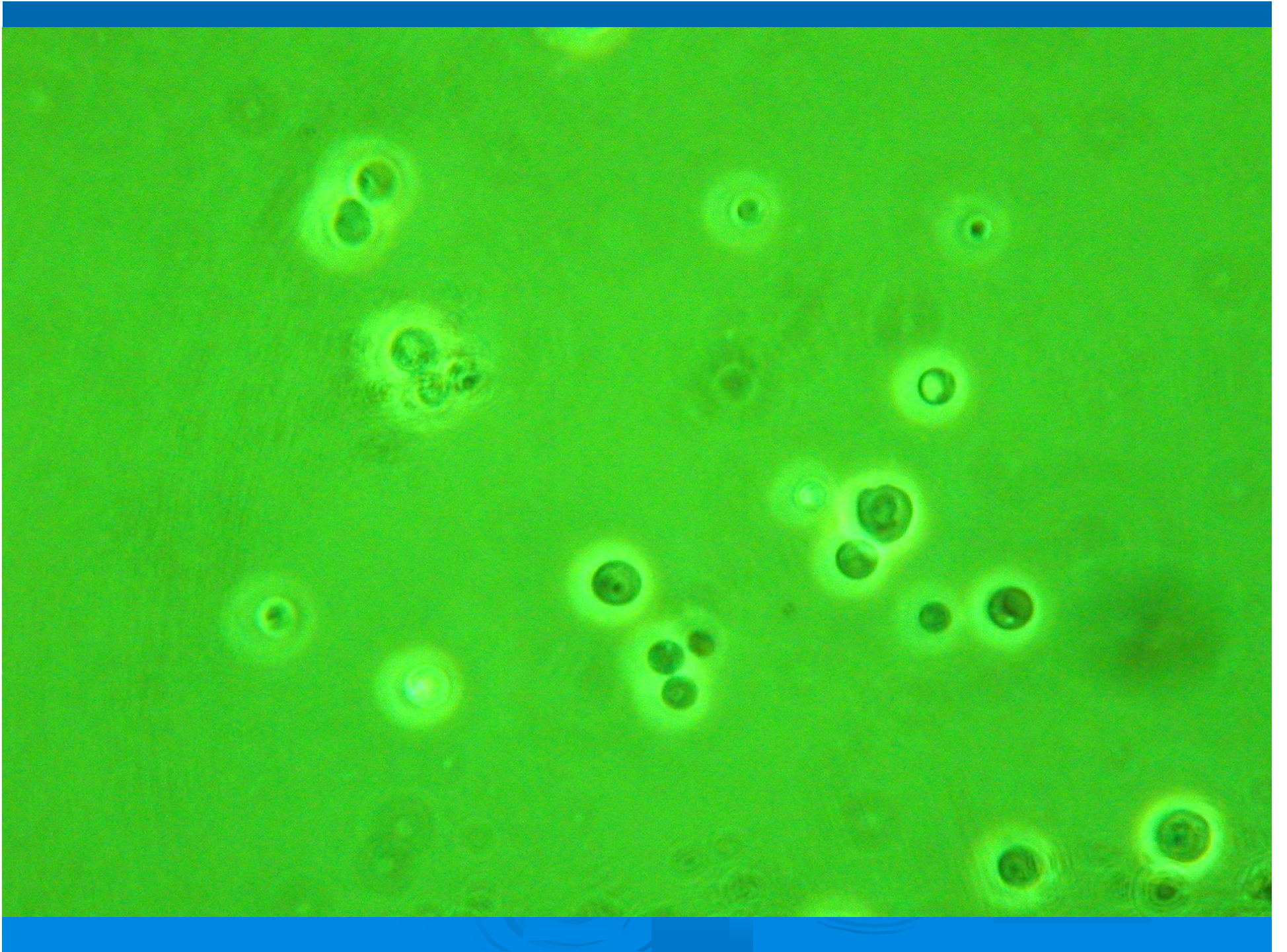
Blastomykóza, kokcidiomyk a, sporotrichóza etc.

# Sporothrix schenckii

buňky ve fázovém kontrastu . hyfy a konídie







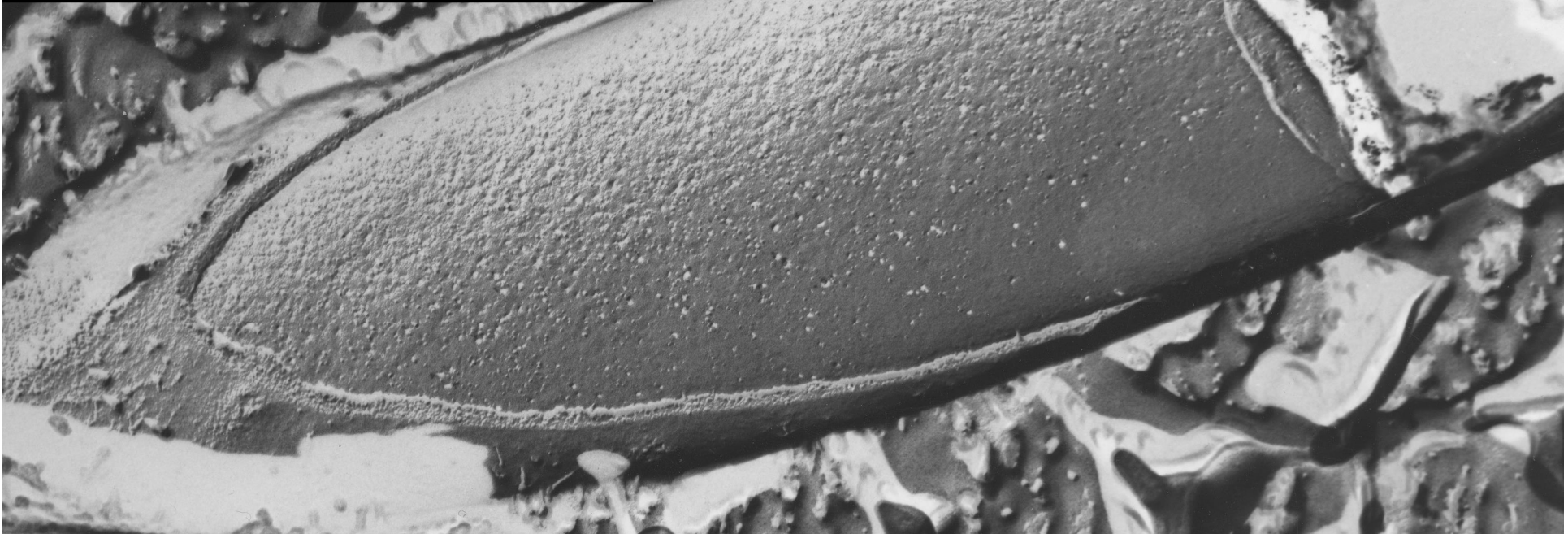
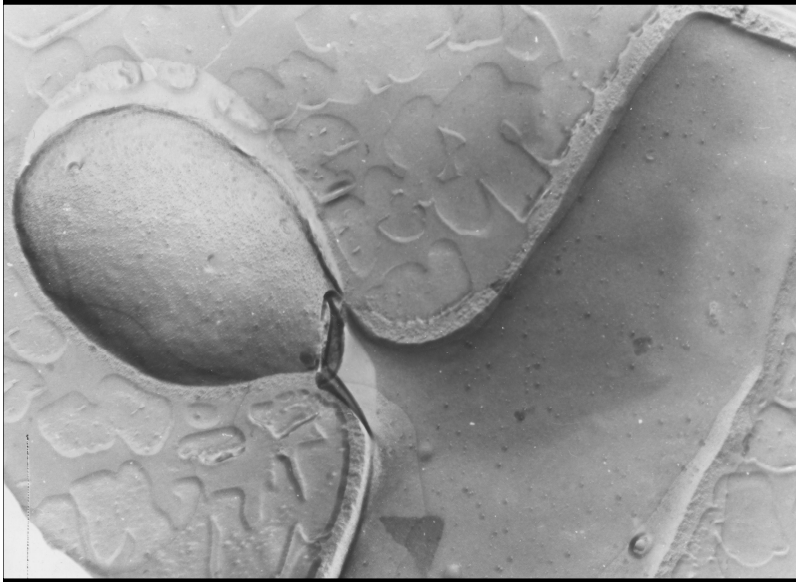
# Sporothrix schenckii

studie bun k freeze fracture tehnikou

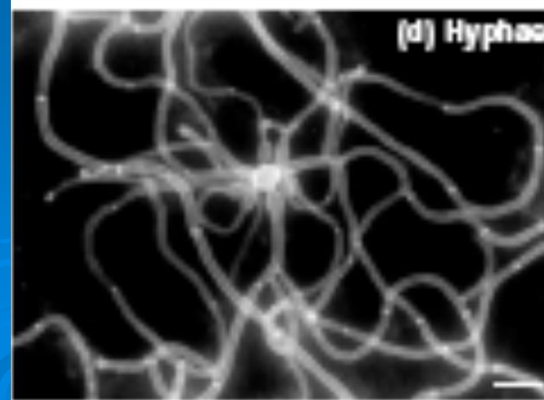
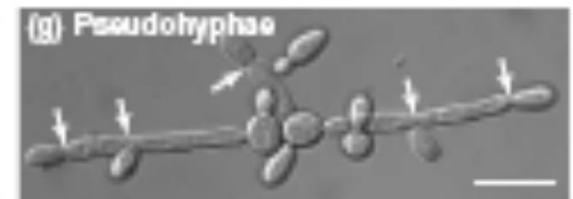
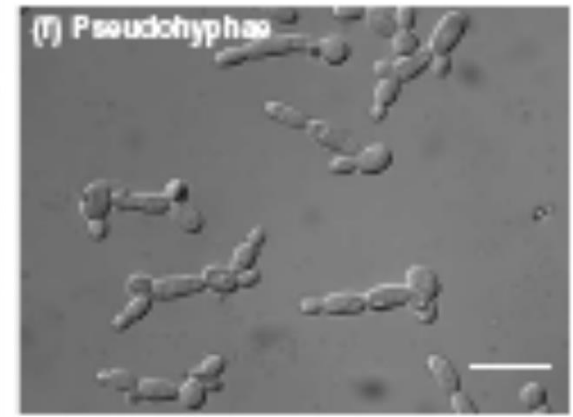
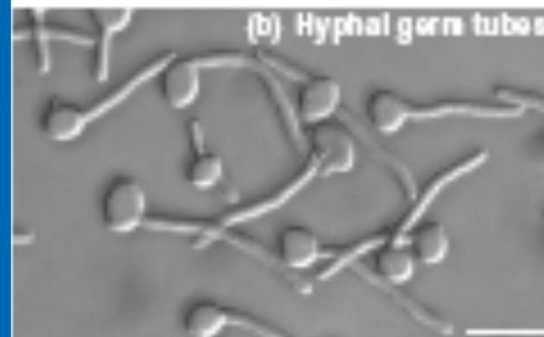
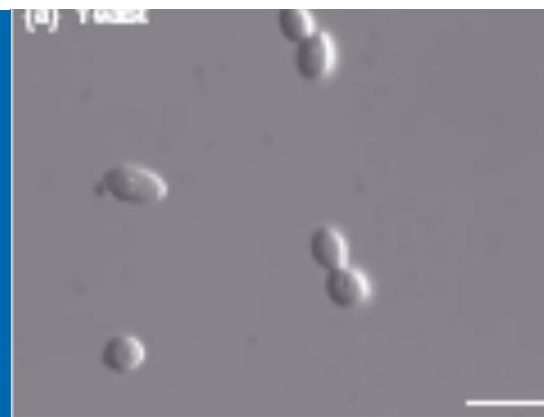
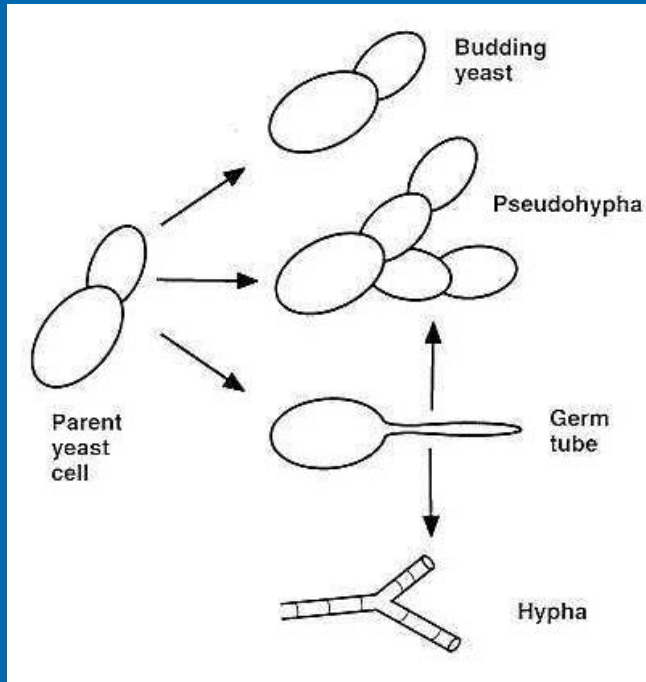


# Sporothrix schenckii

studie bun k freeze-fracture technikou

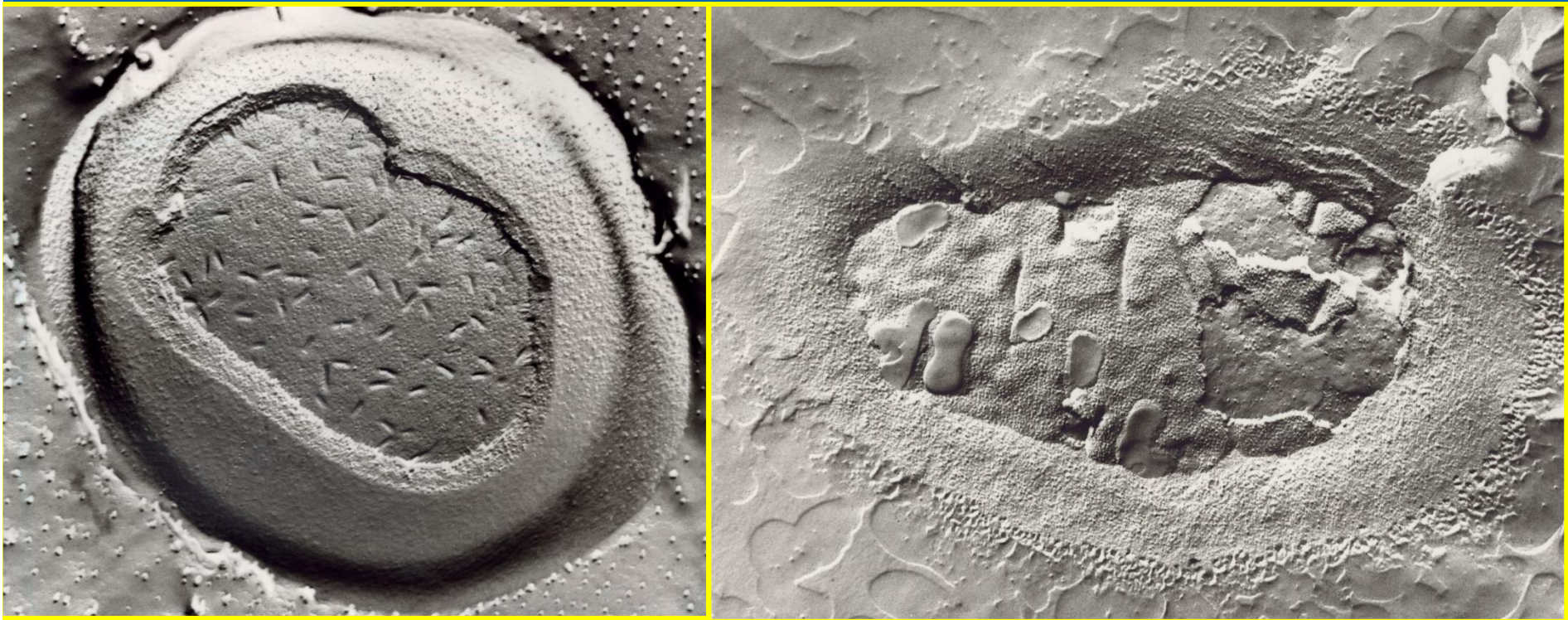


# Candida albicans



# Candida albicans

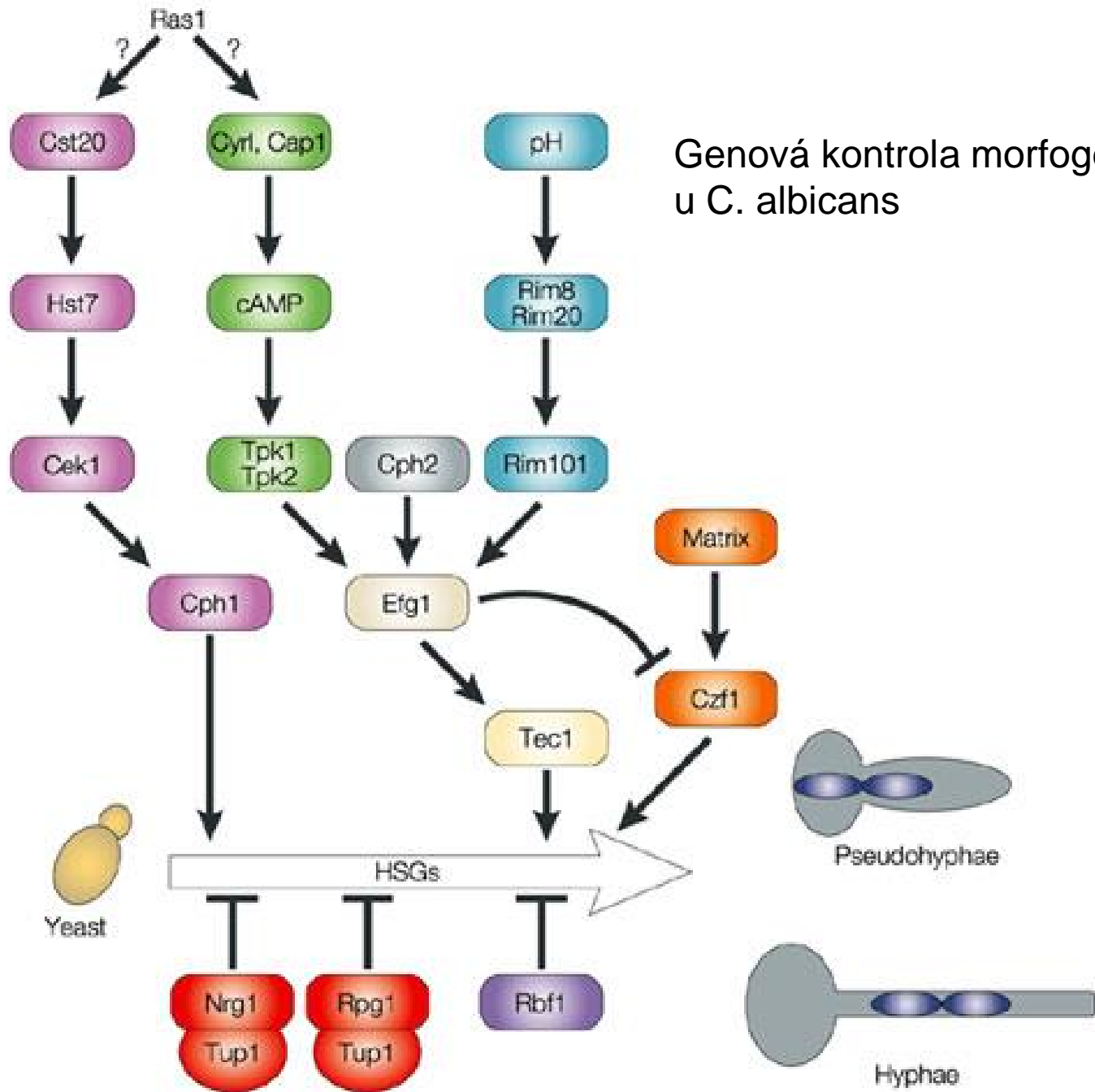
studium vlivu antibiotika nystatinu na morfologii  
plasmatické membrány



8



# Genová kontrola morfogeneze u *C. albicans*

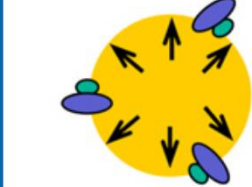


# Role $\text{Ca}^{2+}$ v morfogenezi *Candida albicans*

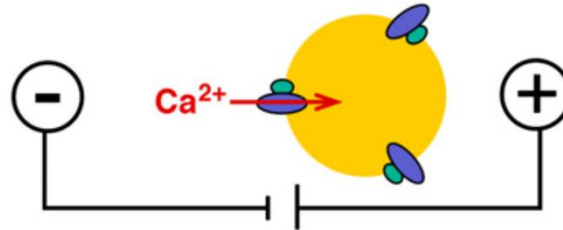
Localized  $\text{Ca}^{2+}$ -channel activation caused by localized changes in membrane potential or membrane stretch, results in calcium influx that directs polarized growth

## A Galvanotropism

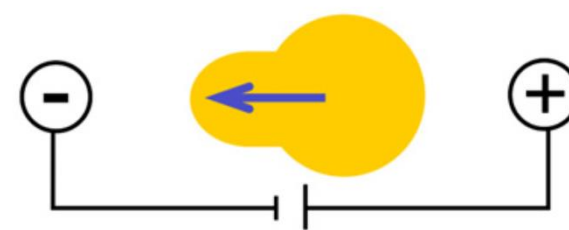
Mid1-Cch1p complex



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



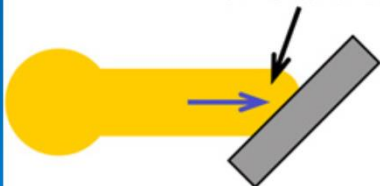
Electric field depolarizes membrane  
at cathodal face, activating Cch1p.



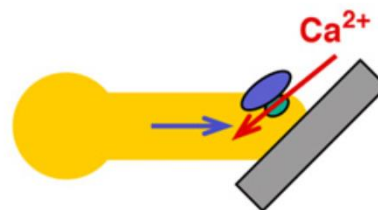
Localized  $\text{Ca}^{2+}$  influx via Cch1p  
establishes axis of cell polarity.  
Germ tube emergence is cathodal.

## B Thigmotropism

Membrane stretch



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



Calcium entry via  
activated Mid1p.



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



# Blastomyces dermatitis

