

# Patogenní kvasinky

Biologie kvasinek 2018



# 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 pro člověka 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
  - kultivační 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, sladivý agar, hydrolyzát kaseinu + chloramfenikol nebo amikacin + vankomycin – antibakteriální efekt)
  - 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 a N) podle aktivity na barevných substrátech

**zymogram** – pův. test na zkvašování cukrů , nyní detekce enzymů podle aktivity na urč. substrátu (na želatině)

## Charakteristika kolonií *Candida* spp. narostlých na CHROMagaru

Barva kolonií

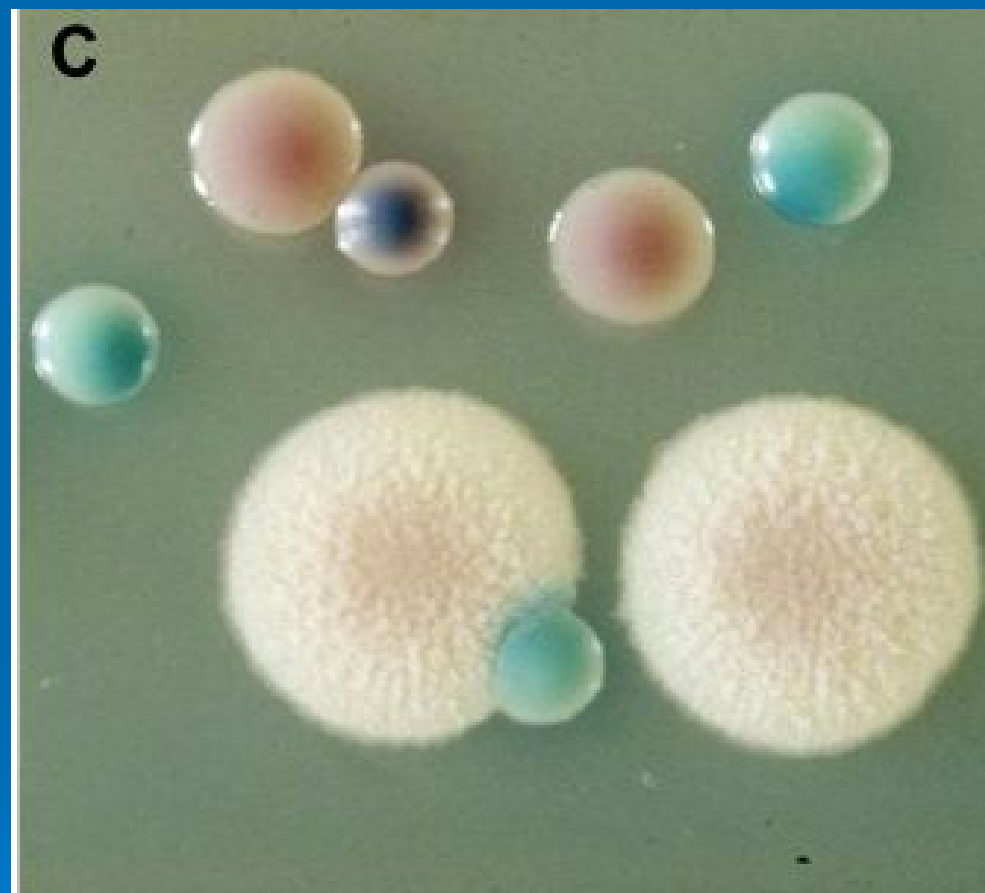
*Candida albicans* zelená

*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**

## **Allylaminová a morpholinová antimykotika**

Allylaminy (naftifin, terbinafin) inhibují biosyntézu ergosterolu na úrovni squalene epoxidázy. Na stejné metabolické dráze působí také morpholin a amorolfin, které však účinkují v pozdějších krocích.

## **Antifungální látky typu antimetabolitů**

5-fluorocytosin působí jako inhibitor jak DNA tak RNA syntézy v důsledku intracytoplasmatické konverze 5-fluorocytosinu na 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

*Canfifa albicans*  
– dimorfní morfologie



Termální dimorfizmus

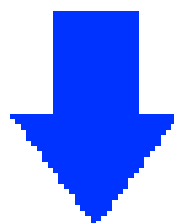
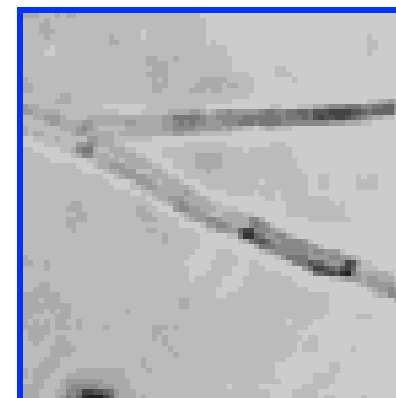
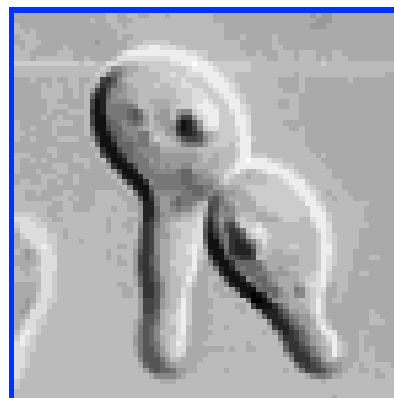
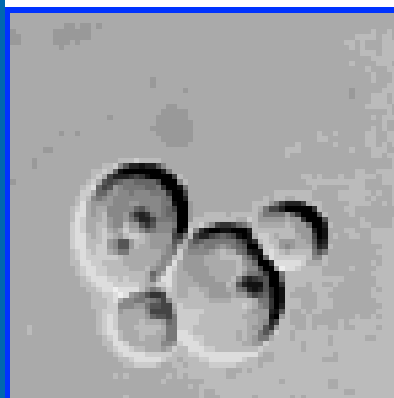
25°C

Yeast  
Levures

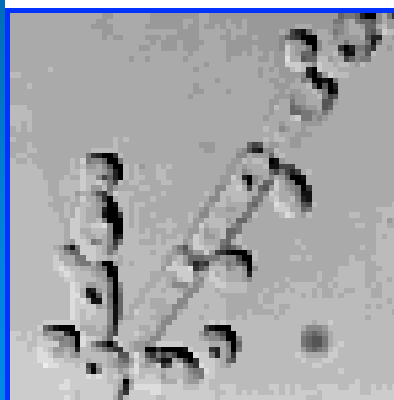
37°C



Hypha  
Hyphes



37°C



Pseudohyphae  
Pseudohyphes





Candida albicans  
Sabouraudův agar



## Identifikace:

- **Sabouraudův glukózový agar** – kvasinková fáze (oválné buňky, 3-8  $\mu\text{m}$ ), 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)



<http://csm5.net>

## Mykotické plaky na zubech

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



# *Pityriasis versicolor*

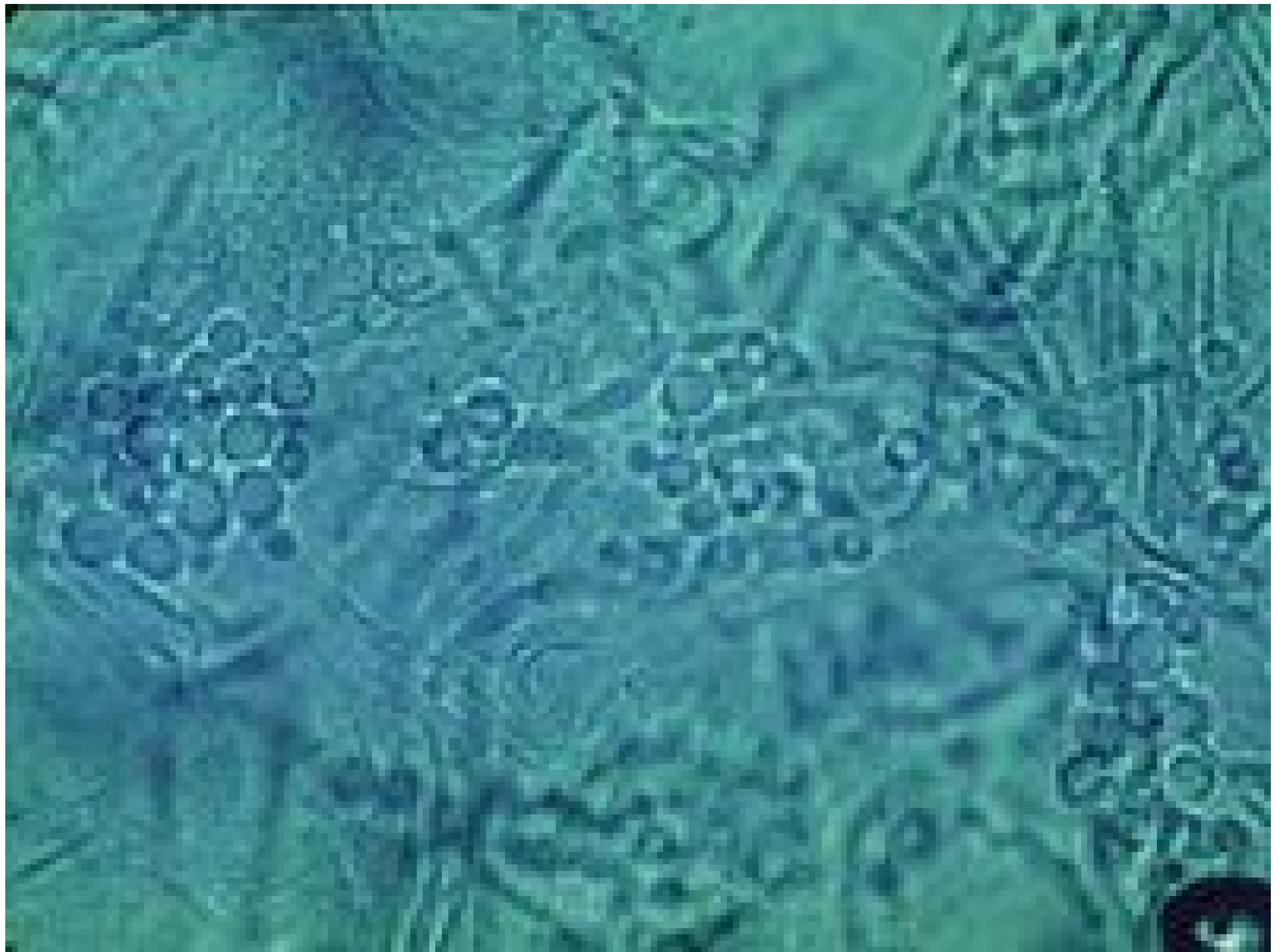
- chronická infekce způsobená lipofilní *Malassezia furfur*
- odbarvené skvrny na kůži

## *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  $\mu\text{m}$ , 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







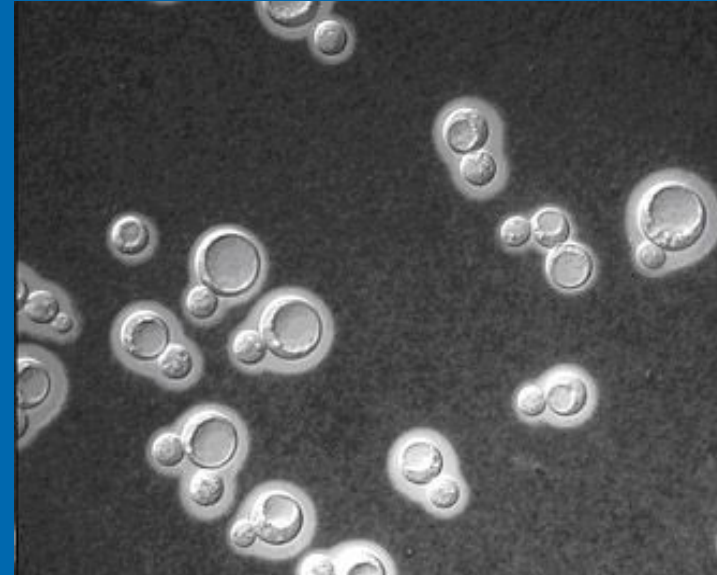
# Systemové mykózy

## Kryptokokóza:

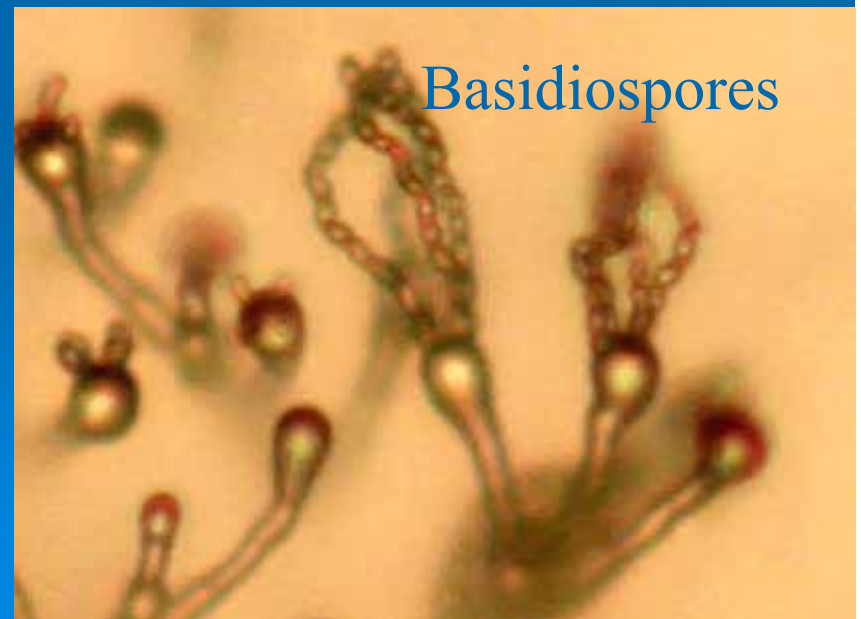
- způsobuje ***Cryptococcus neoformans*** vytvářející hladké lesklé kolonie, kolem buněk silné pouzdro
- onemocnění CNS a plic
- sporadicky po celém světě, nejčastější u pacientů s AIDS (u 10%)
- prostředí – alkalické substráty bohaté na dusík

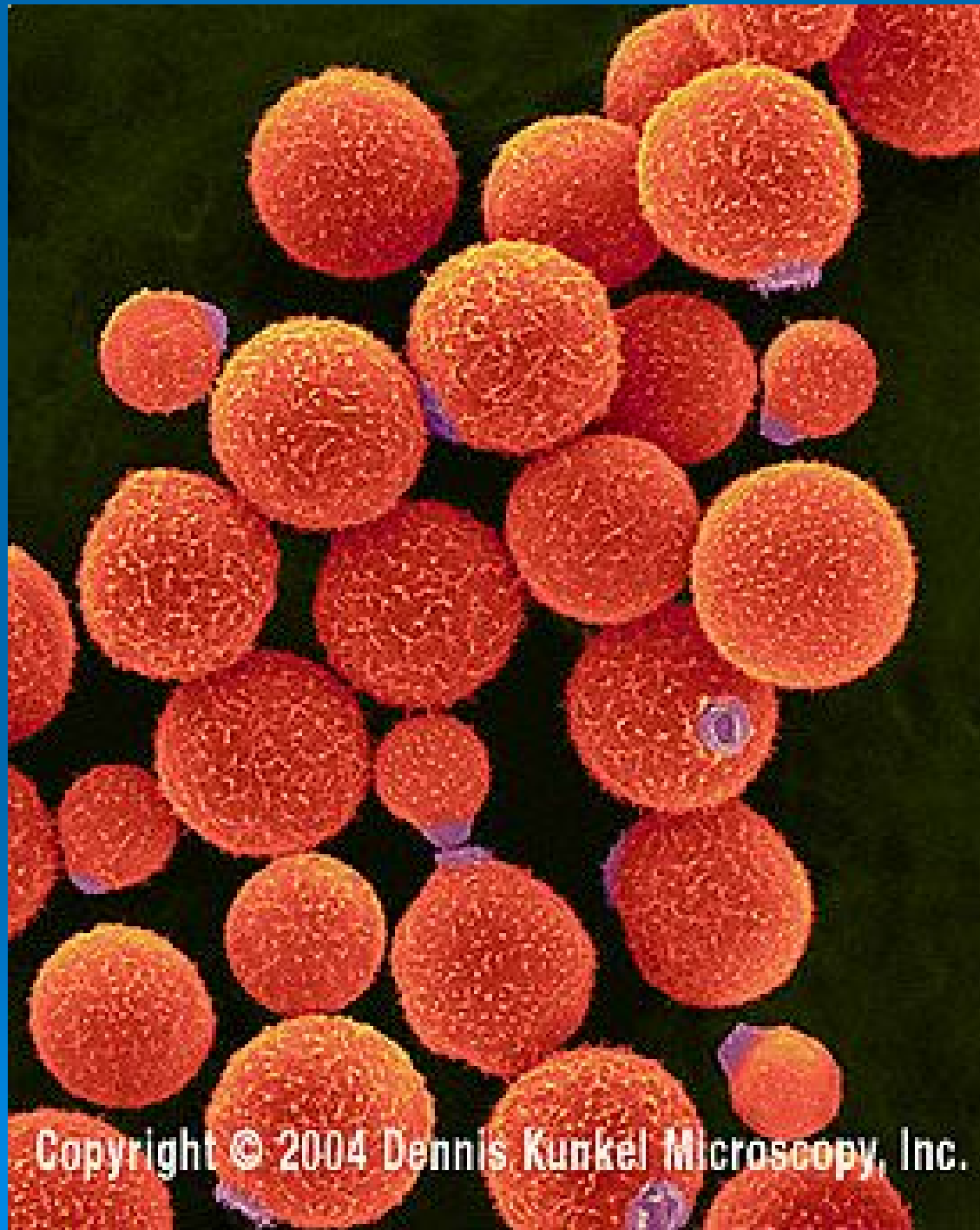


Kožní infekce



Fázový kontrast





Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



## Průkaz:

**mikroskopicky:** v mozkomíšním moku a dalším klinickém materiálu - kulovité buňky 2–10  $\mu\text{m}$  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

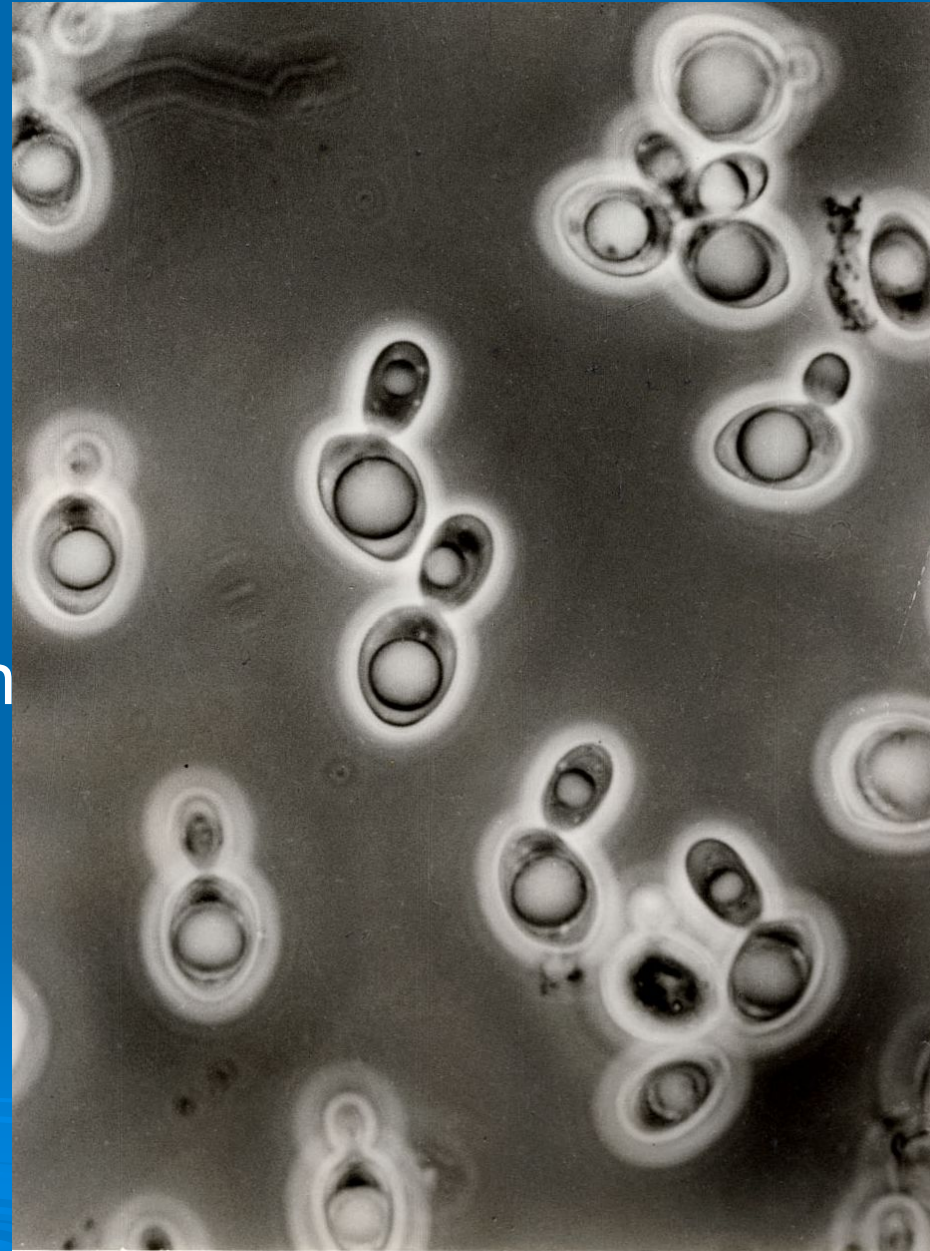


Geotrichum candidum



# *Saccharomyces cerevisiae*

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



# *Rhodotorula*

- barevné kolonie (oranžové, červené)
- neasimiluje inositol



# Dimorfní houby



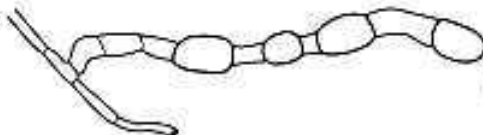
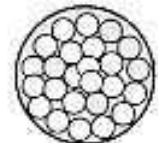
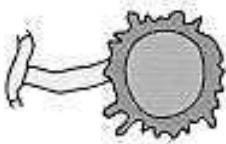
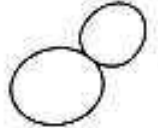
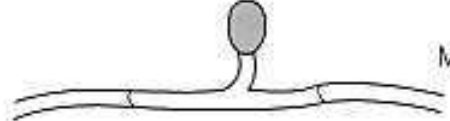


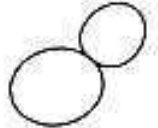
## vláknitá fáze

- 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

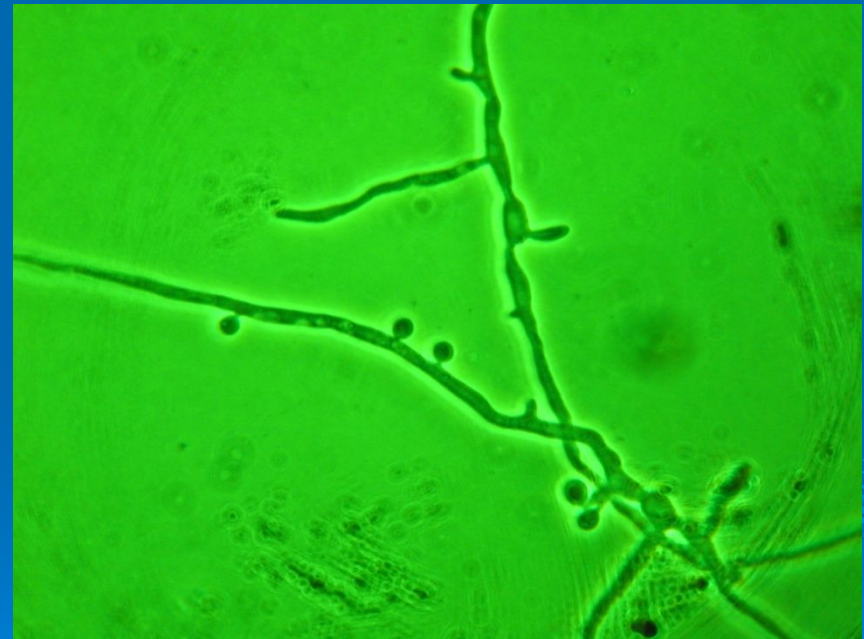
# Dimorfní patogenní kvasinky

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

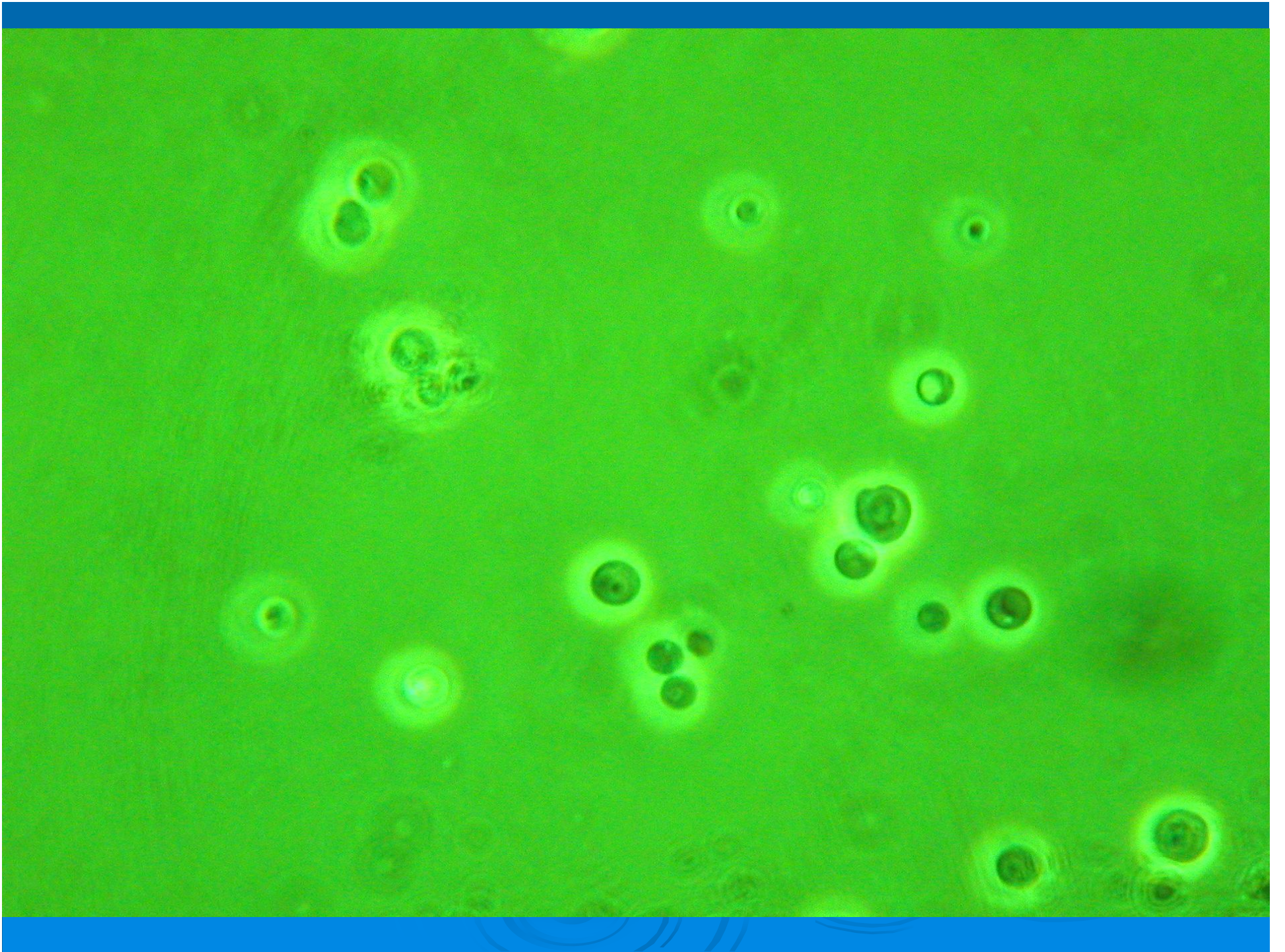
Blastomykóza, kokcidiomykzá, sporotrichóza etc.

# Sporothrix schenckii

buňky ve fázovém kontrastu – hyfy a konídie









# Sporothrix schenckii

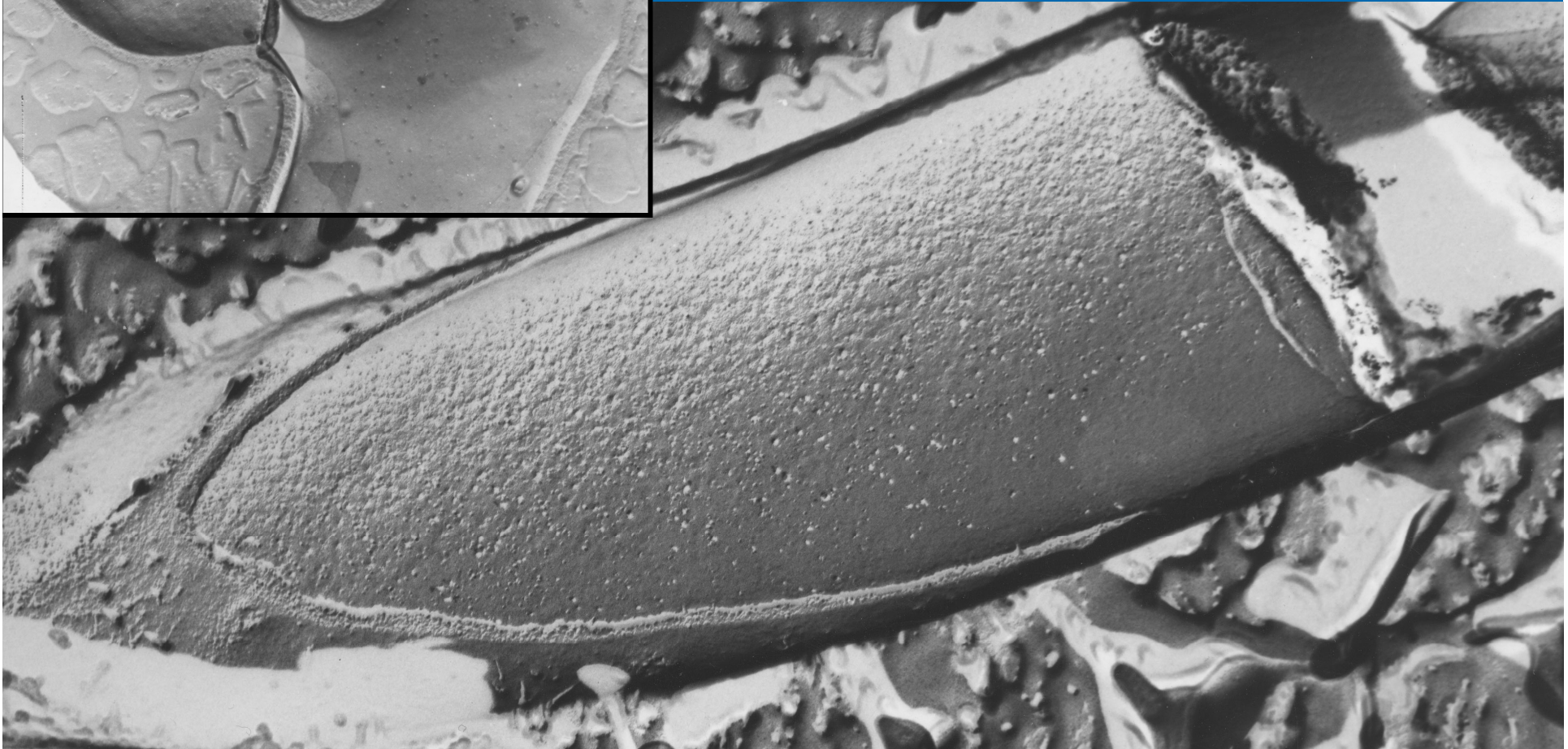
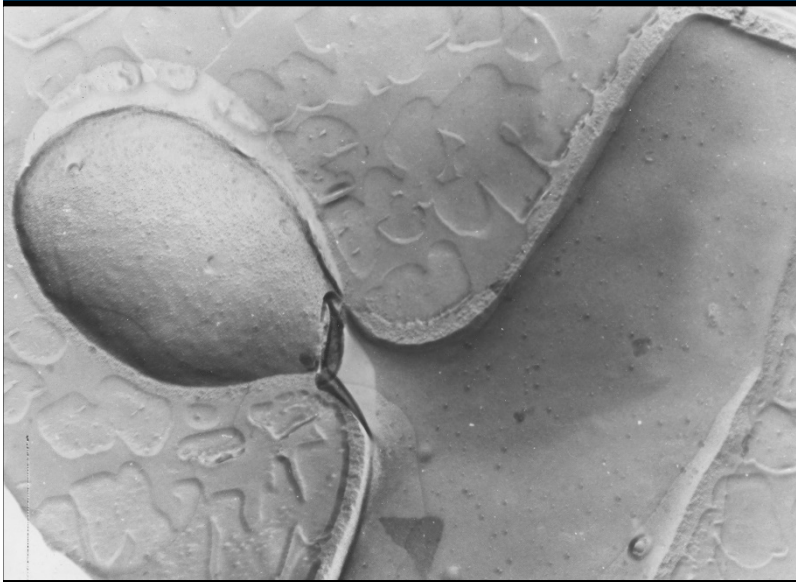
studie buněk freeze fracture technikou





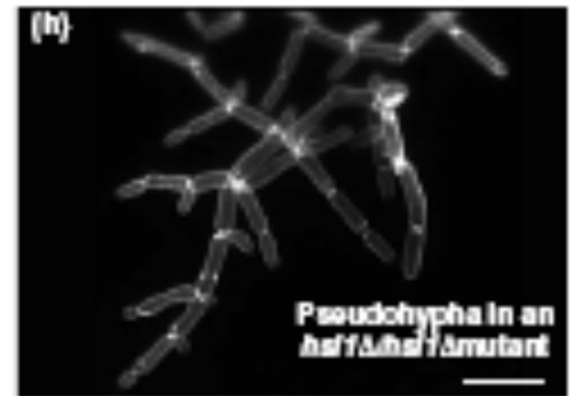
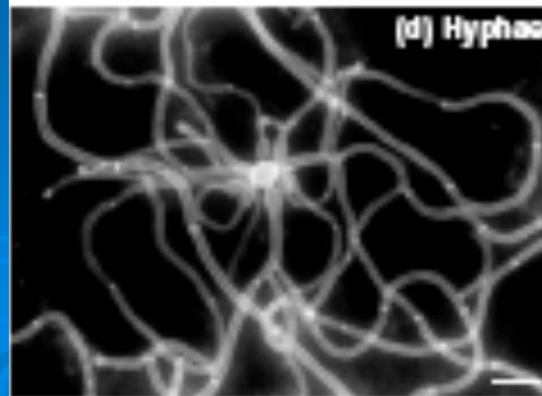
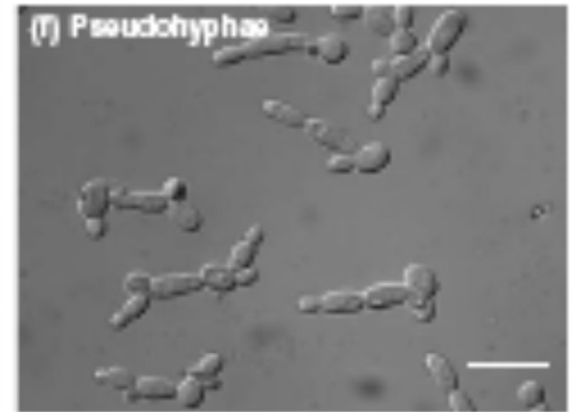
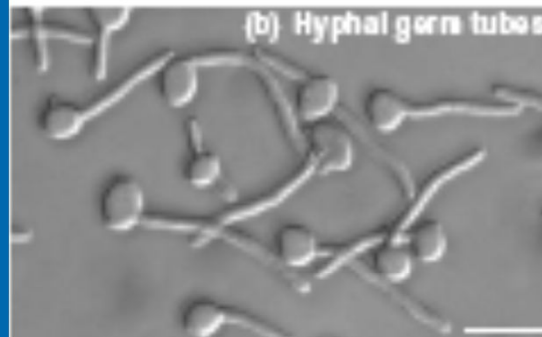
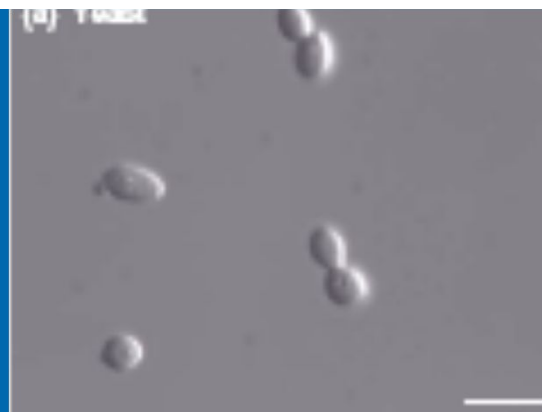
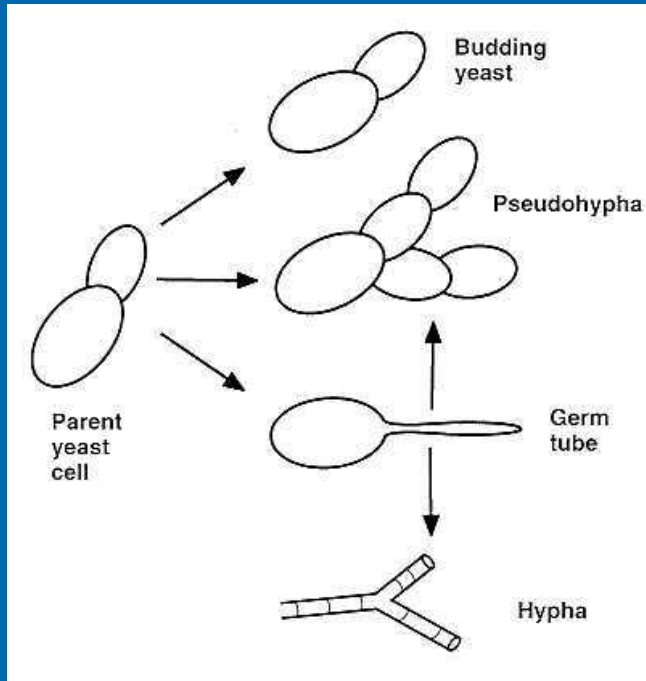
# Sporothrix schenckii

studie buněk freeze-fracture technikou  
konidie a vlákna



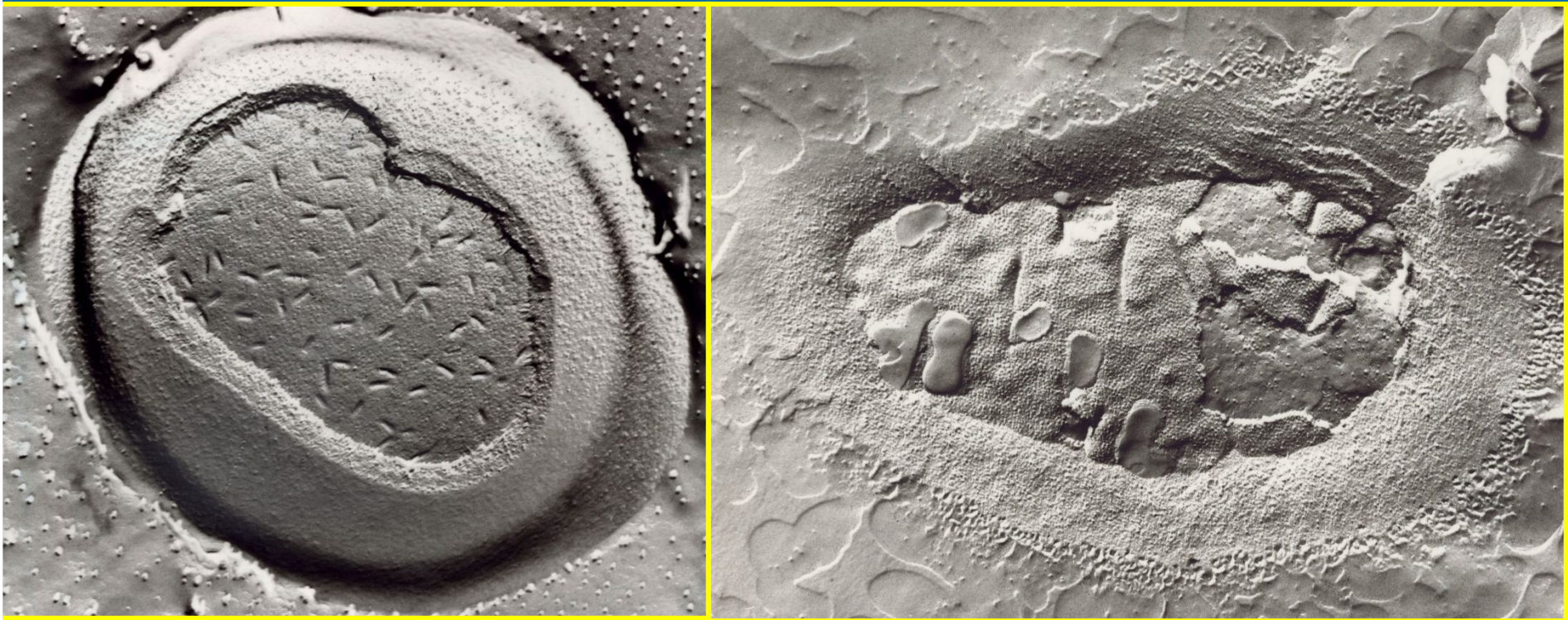


# Candida albicans



# *Candida albicans*

studium vlivu antibiotika nystatinu na morfologii  
plasmatické membrány



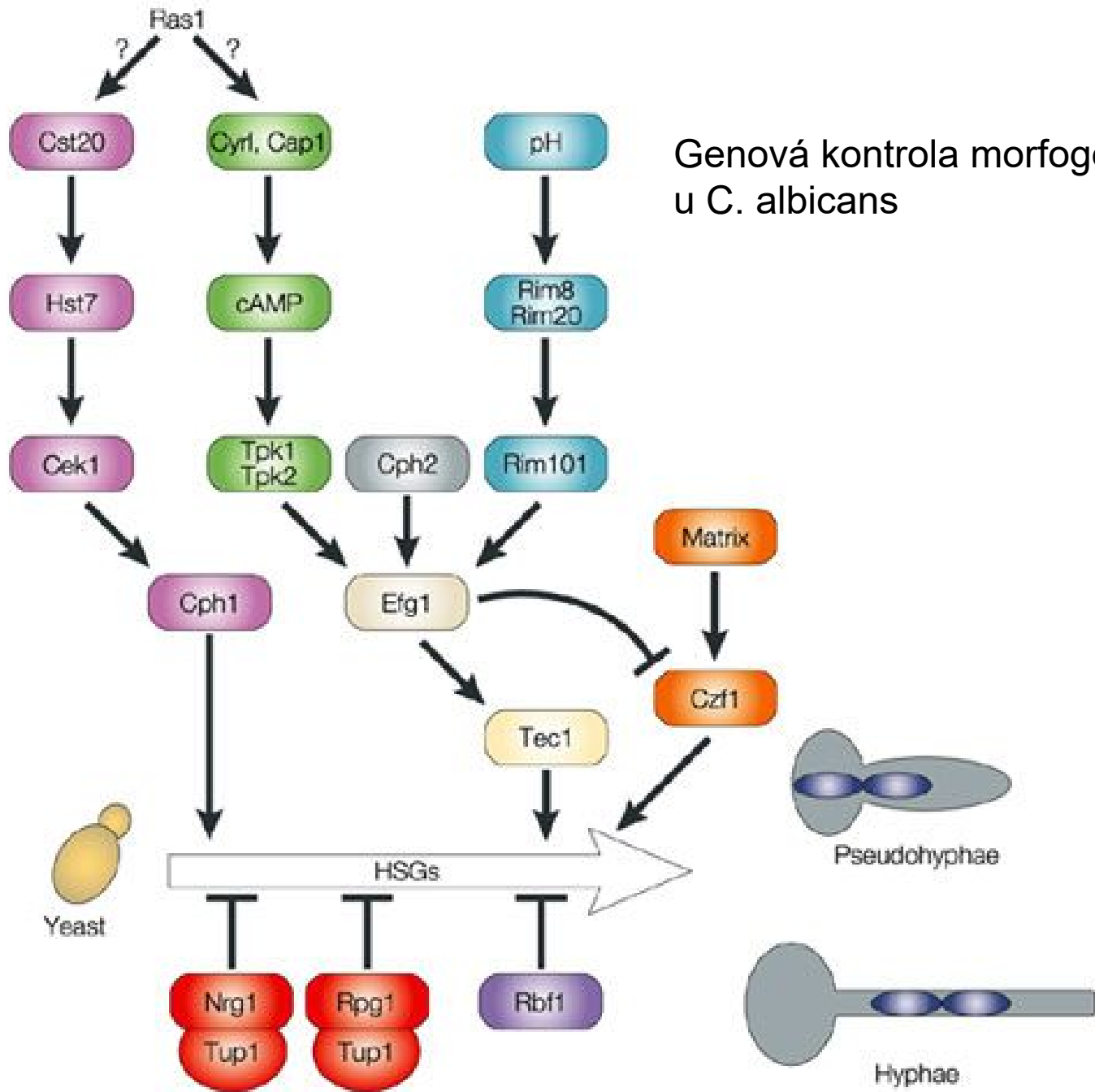


8





# Genová kontrola morfogeneze u *C. albicans*

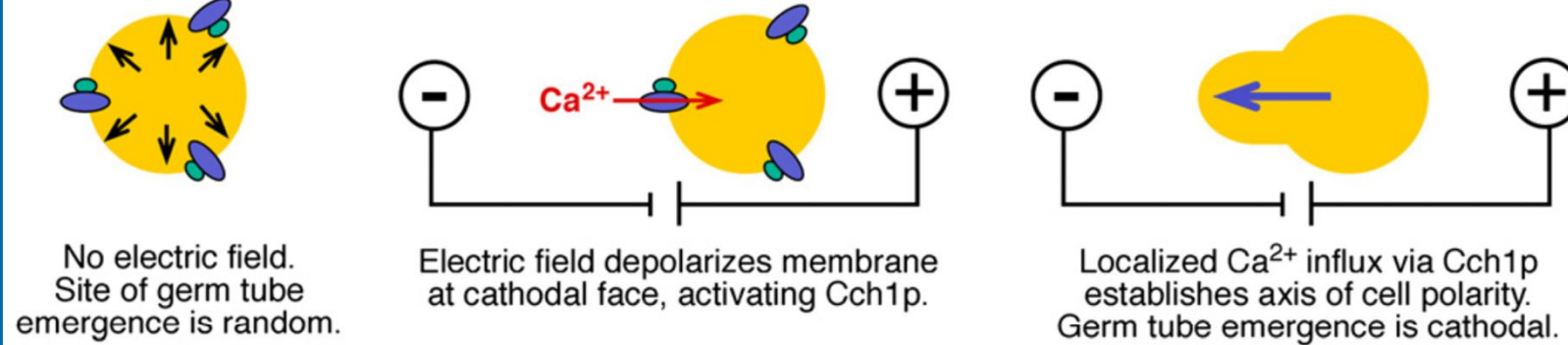


# Role $\text{Ca}^{2+}$ v morfogenezi *Candida albicans*

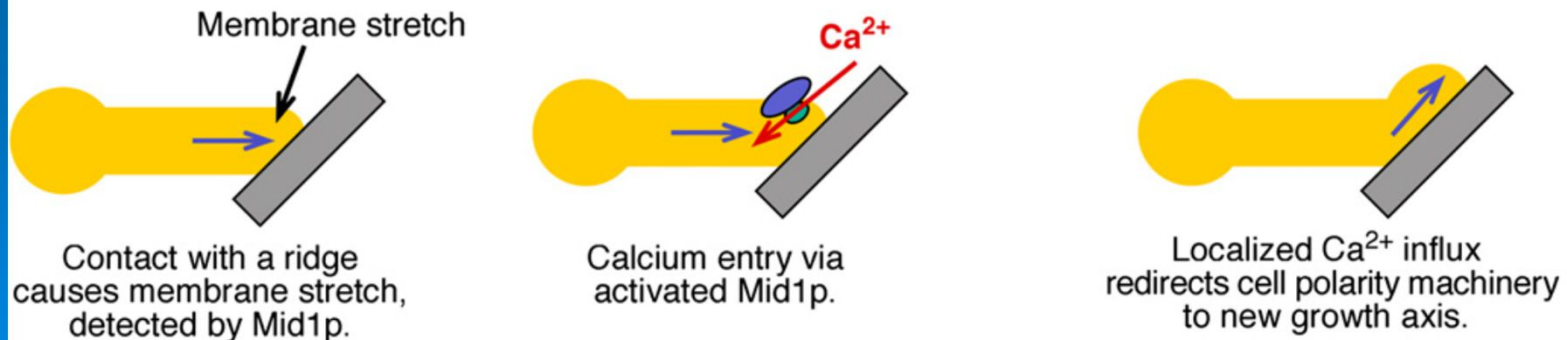
Localized  $\text{Ca}^{2+}$ -channel activation caused by localized changes in membrane potential or membrane stretch, results in calcium influx that directs polarized growth

## A Galvanotropism

Mid1-Cch1p complex



## B Thigmotropism



# Blastomyces dermatitis



Image Courtesy of M. McGinnis  
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation