

# 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
- komezálové človeka – endogenní infekce (autoinfekce) 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)*** – kmenzál

***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, 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)

**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

RNA

**Antimykotika** → (toxický účinek na hostitele) –  
kvasinky a plísňe jsou eukaryotické buňky jako buňky lidské

## 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 buněčné stěny, 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** - inhibuje syntézu RNA a DNA a biosyntézu a sekundárně syntézu proteinů

- **Příklady antimykotik**

- **perorálně:** ketokonazol, terbinafin

- **parenterálně:**

  - amfotericin B, mikonazol...

  - (malá vstřebatelnost z trávicího ústrojí)

- **parenterálně i perorálně:**

  - flukonazol, itrakonazol, flucytozin...

---

Perorální - podání ústy

Parenterální : nitrožilní (i. v.), nitrosvalové (i. m.),  
podkožní (s.c.)

# azolové deriváty

inhibice syntézy ergosterolu

## a) 2-nitroimidazoly :

klotrimazol

mikonazol

ketokonazol

## b) triazoly :

itrakonazol (kandidózy, kryptokokózy)

flukonazol (kryptokoková meningitida)

- existuje primární i získaná rezistence k azolovým sloučeninám

# kyselina benzoová

(Whitfieldova mast) – povrchové mykózy

# polyeny

interagují s ergosterolem v plasmatické membráně

**nystatin** (kandidózy)

**amfotericin B** (kandidózy, kryptokokózy)



**griseofulvin** – proti dermatofytům (degradace cytoskeletu)

**kyselina nalidixová** (inhibice syntézy DNA)

**Fluoropyrimidiny** (inhibice syntézy RNA)

**Kandicidin** (účinek na ergosterol plasmatické membrány)

další látky toxické vůči kvasinkám:

**jodid draselný, kyselina boritá, bazická barviva**

**kombinace antimykotik:**

# Povrchové mykózy

## Povrchová kandidóza:

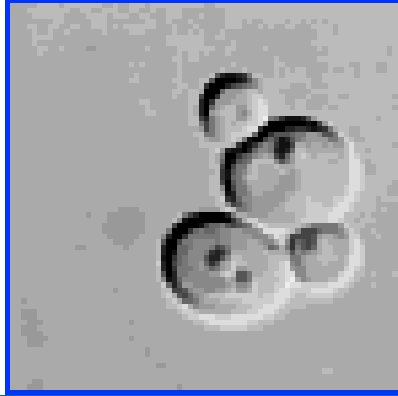
- postižení kůže, nehtů, sliznic úst a pochvy (infekce sliznic – „moučnivka“)
- 80 – 90% *Candida albicans*, zbývající případy další druhy (*C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*...)
- 20% lidské populace – *C. albicans* součást komensální flóry pokožky a sliznic
- výskyt závisí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

*Candida albicans* Germ  
trento.org/medicina/477419



25°C

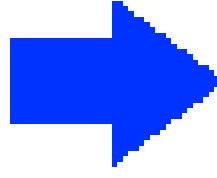
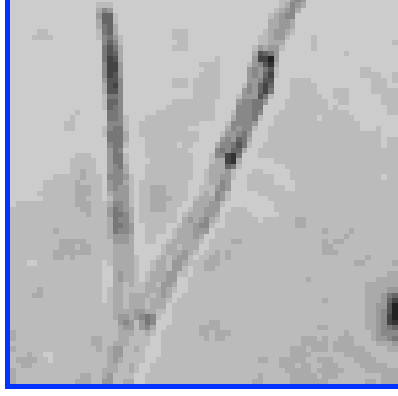
**Yeast**  
Levures



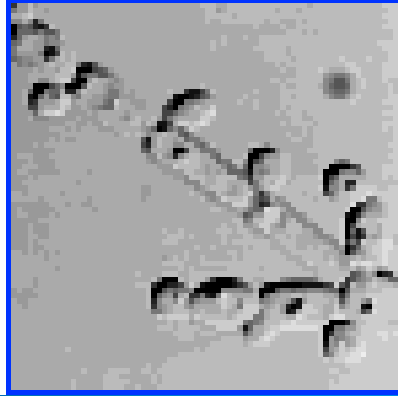
37°C



**Hypa**  
Hyphes



37°C



**Pseudohyphae**  
Pseudohyphes





Candida albicans

## Identifikace:

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

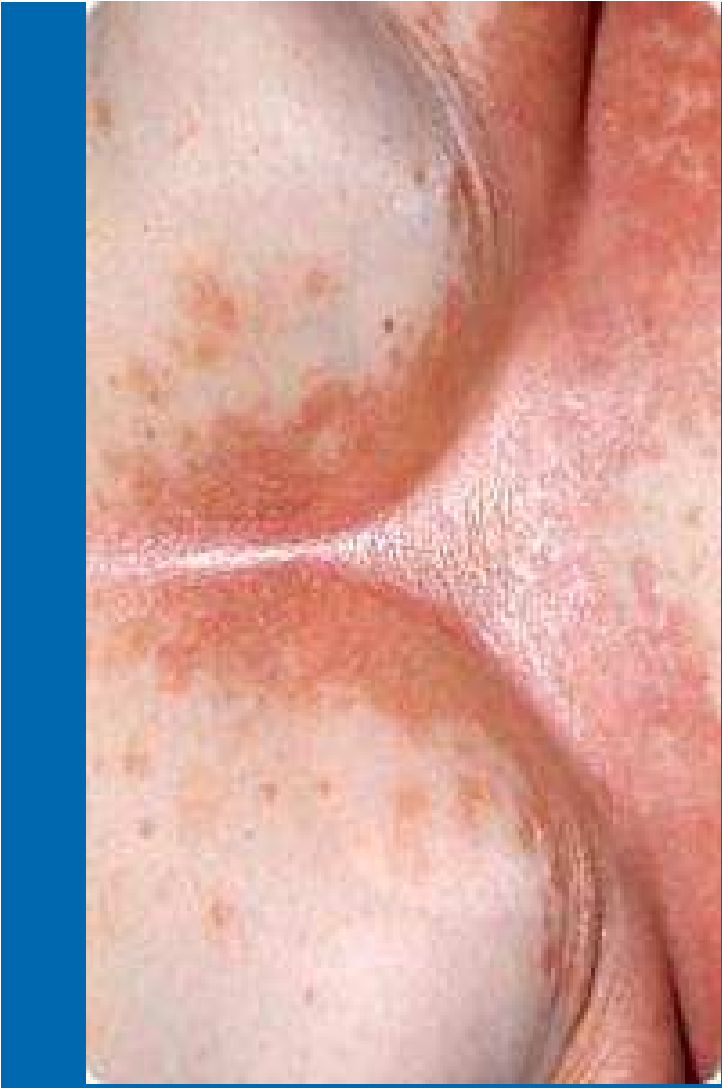
# infekce sliznic:

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

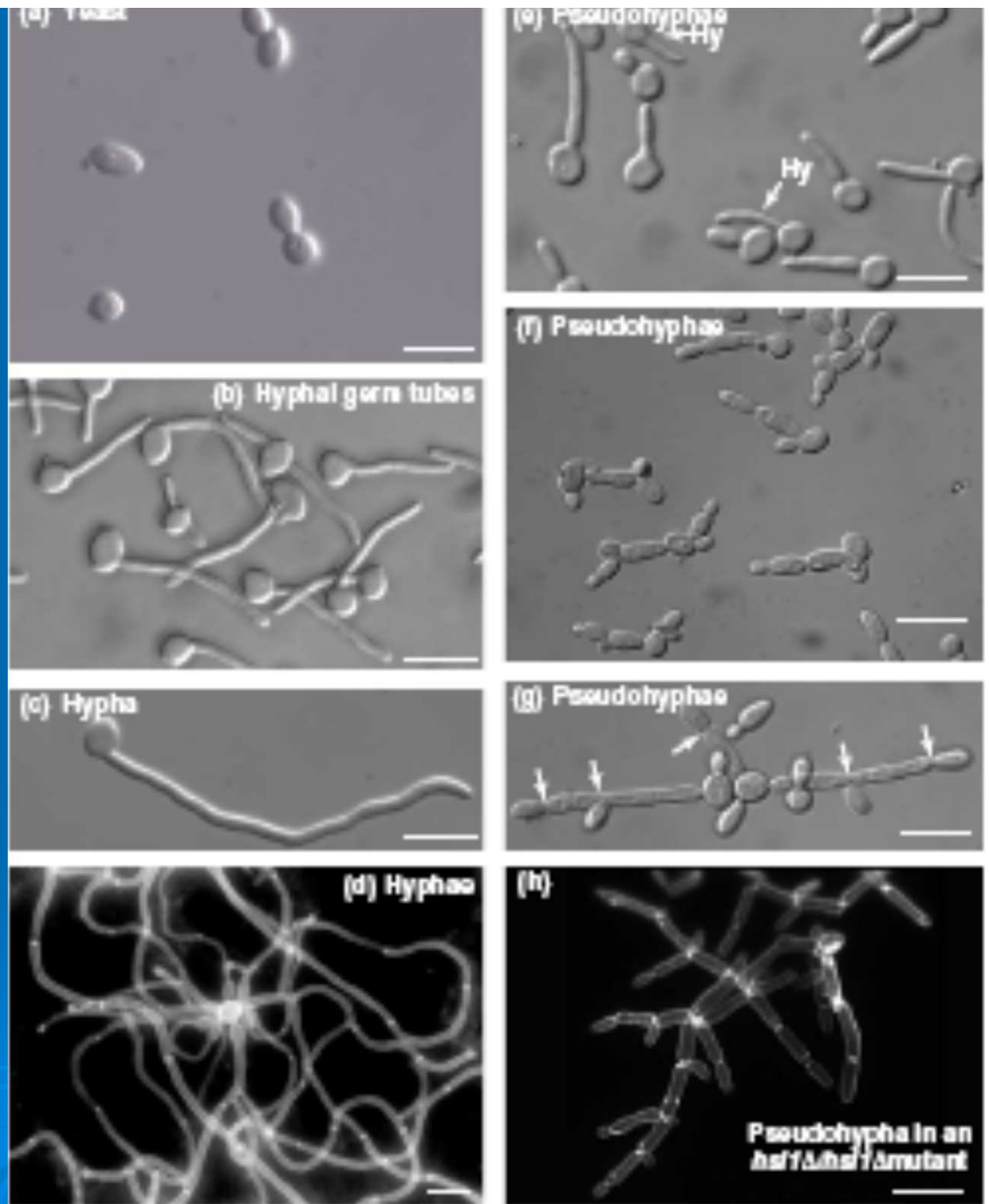
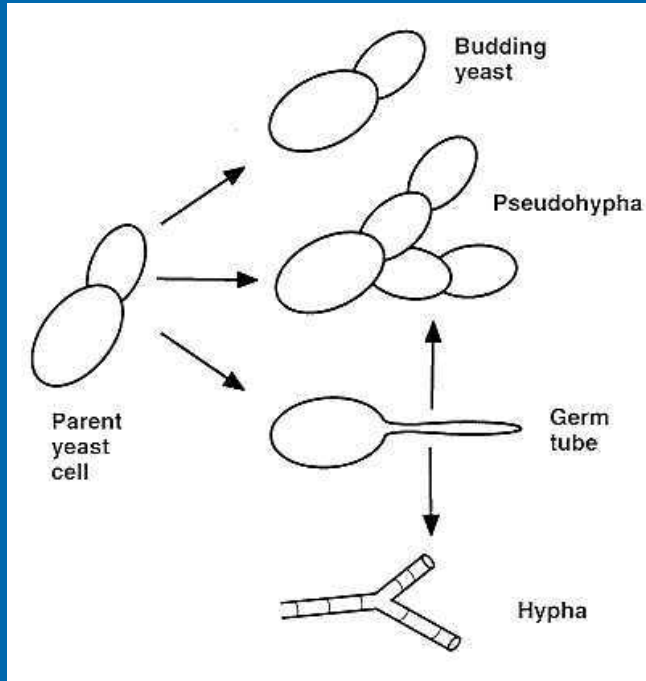


# infekce kůže a nehtů:

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

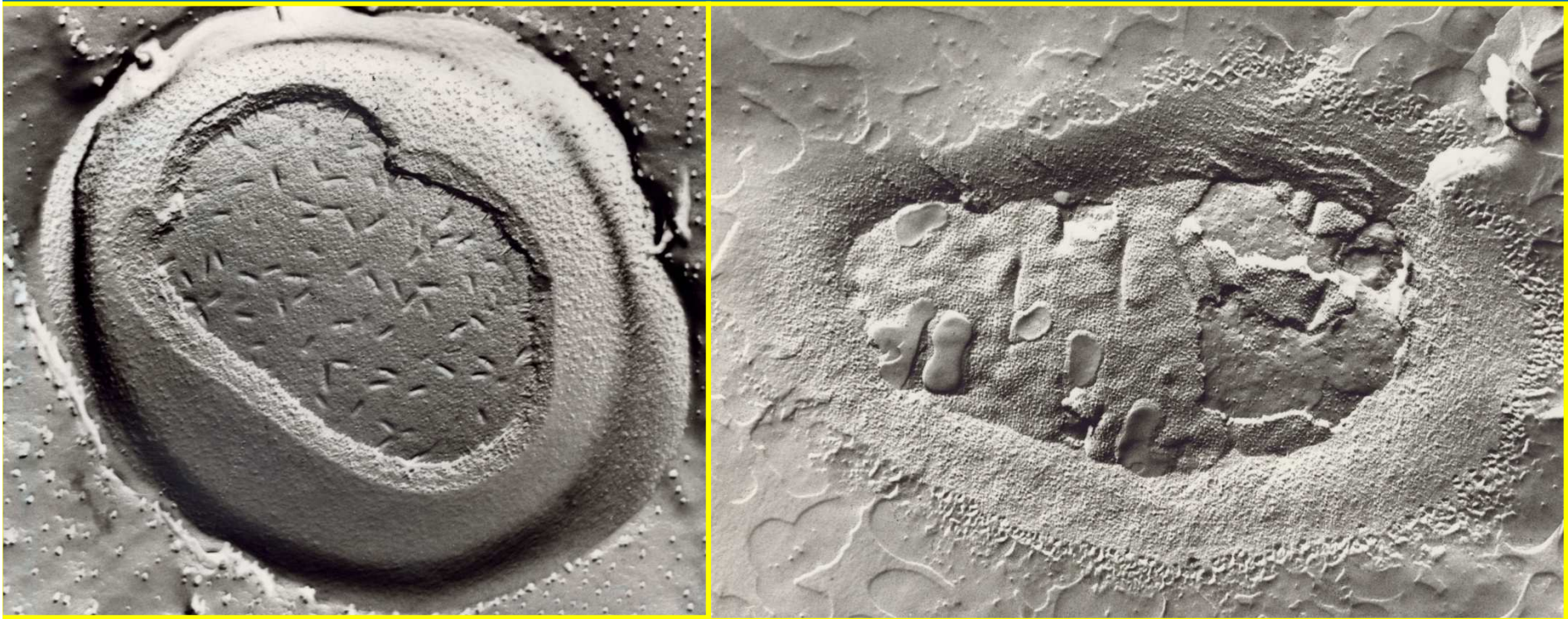


# Candida albicans

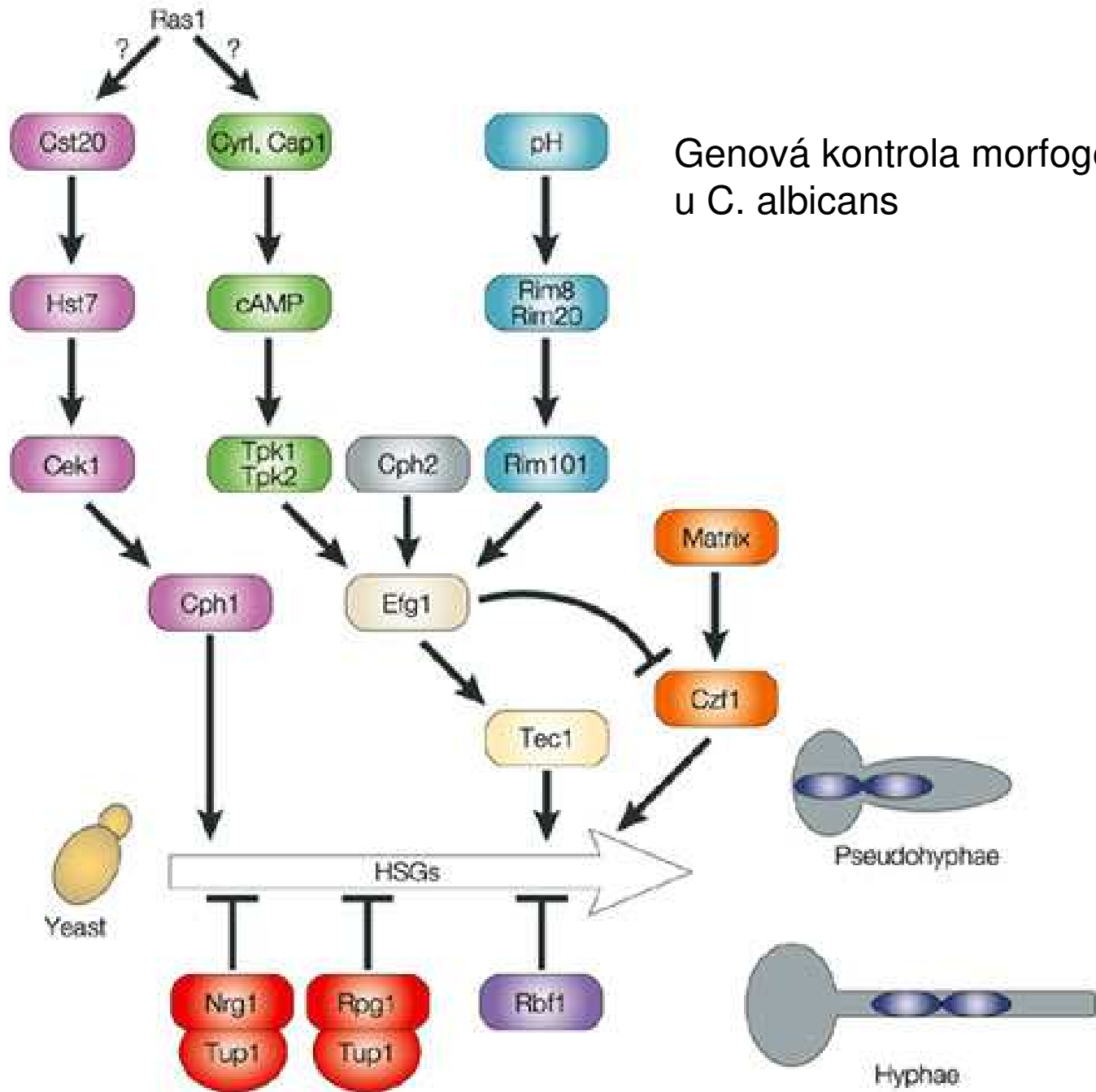


# Candida albicans

studium vlivu antibiotika nystatinu na morfologii  
plasmatické membrány







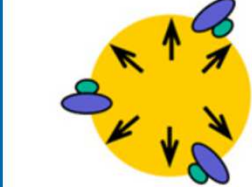
Genová kontrola morfogeneze u *C. albicans*

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

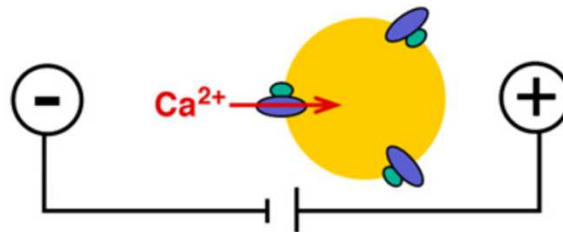
Localized  $\text{Ca}^{2+}$ -channel activation caused by localized changes in membrane potential or membrane stretch, results in calcium influx that directs polarized growth

## A Galvanotropism

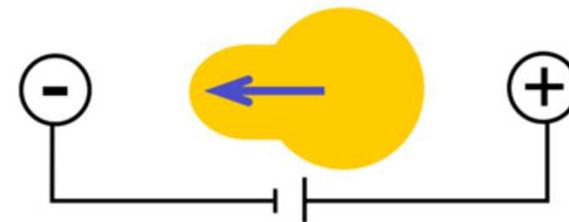
Mid1-Cch1p complex



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



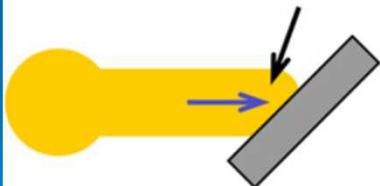
Electric field depolarizes membrane  
at cathodal face, activating Cch1p.



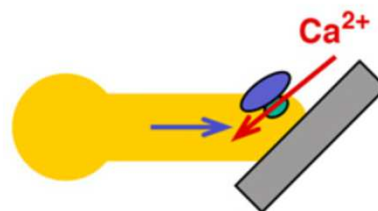
Localized  $\text{Ca}^{2+}$  influx via Cch1p  
establishes axis of cell polarity.  
Germ tube emergence is cathodal.

## 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.

# *Pityriasis versicolor*

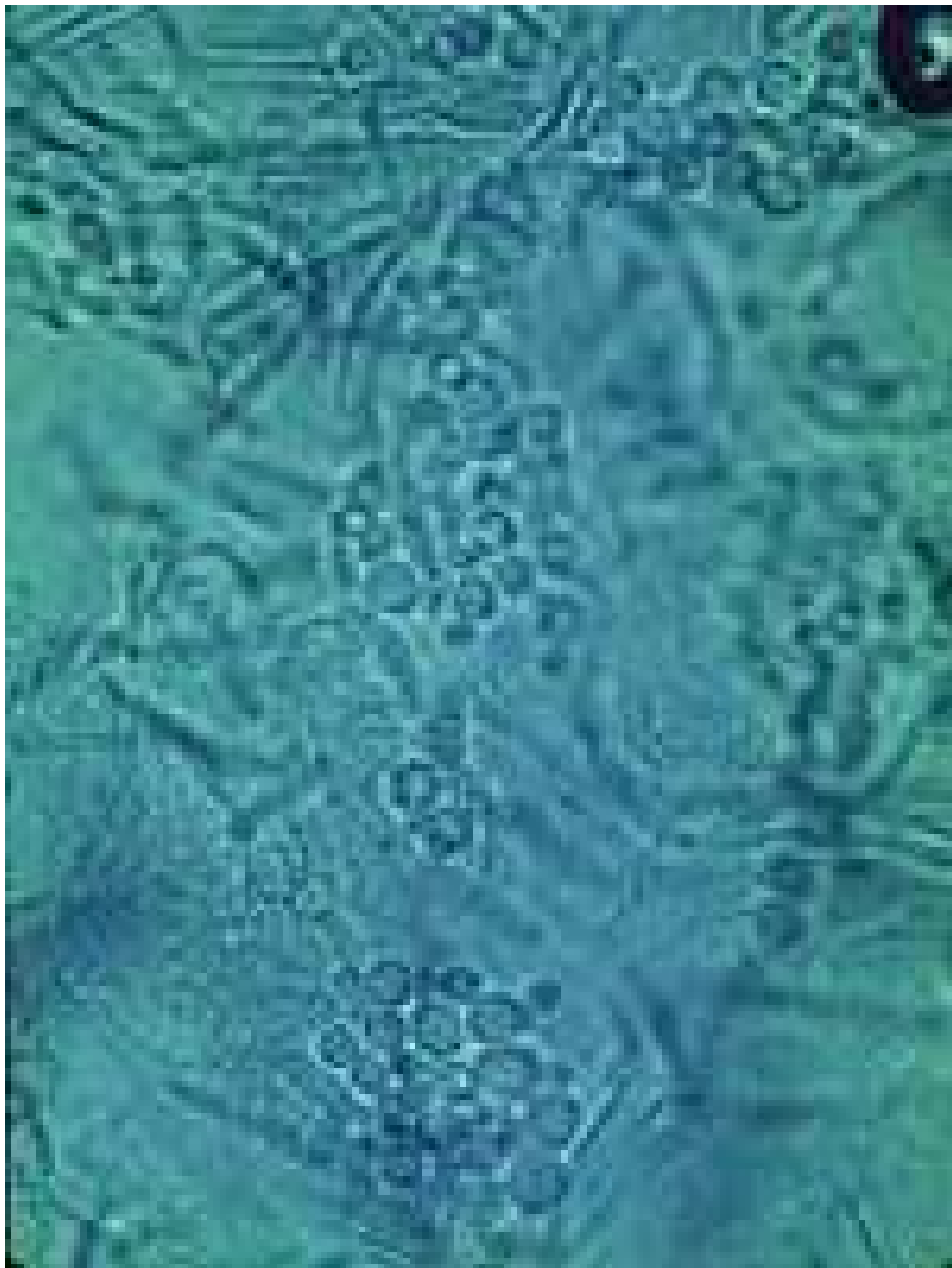
- chronická infekce způsobená lipofilní *Malassezia furfur*
- odbarvené skvrny na kůži

## *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







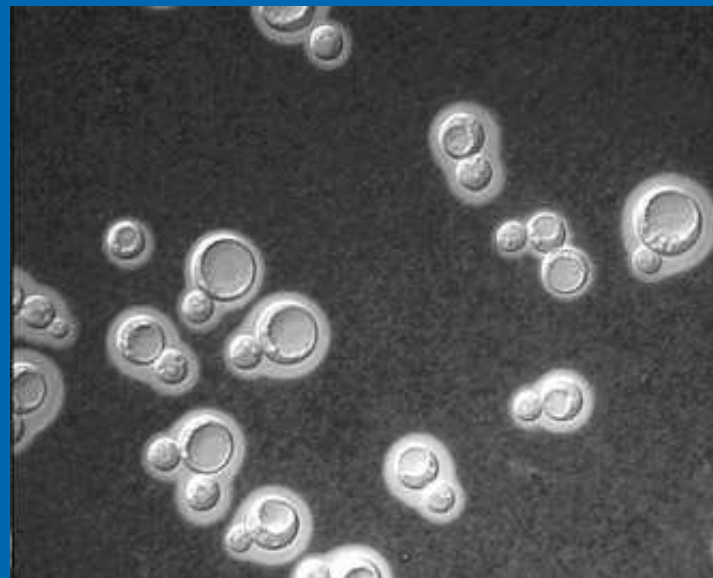
# Systemové mykózy

## 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

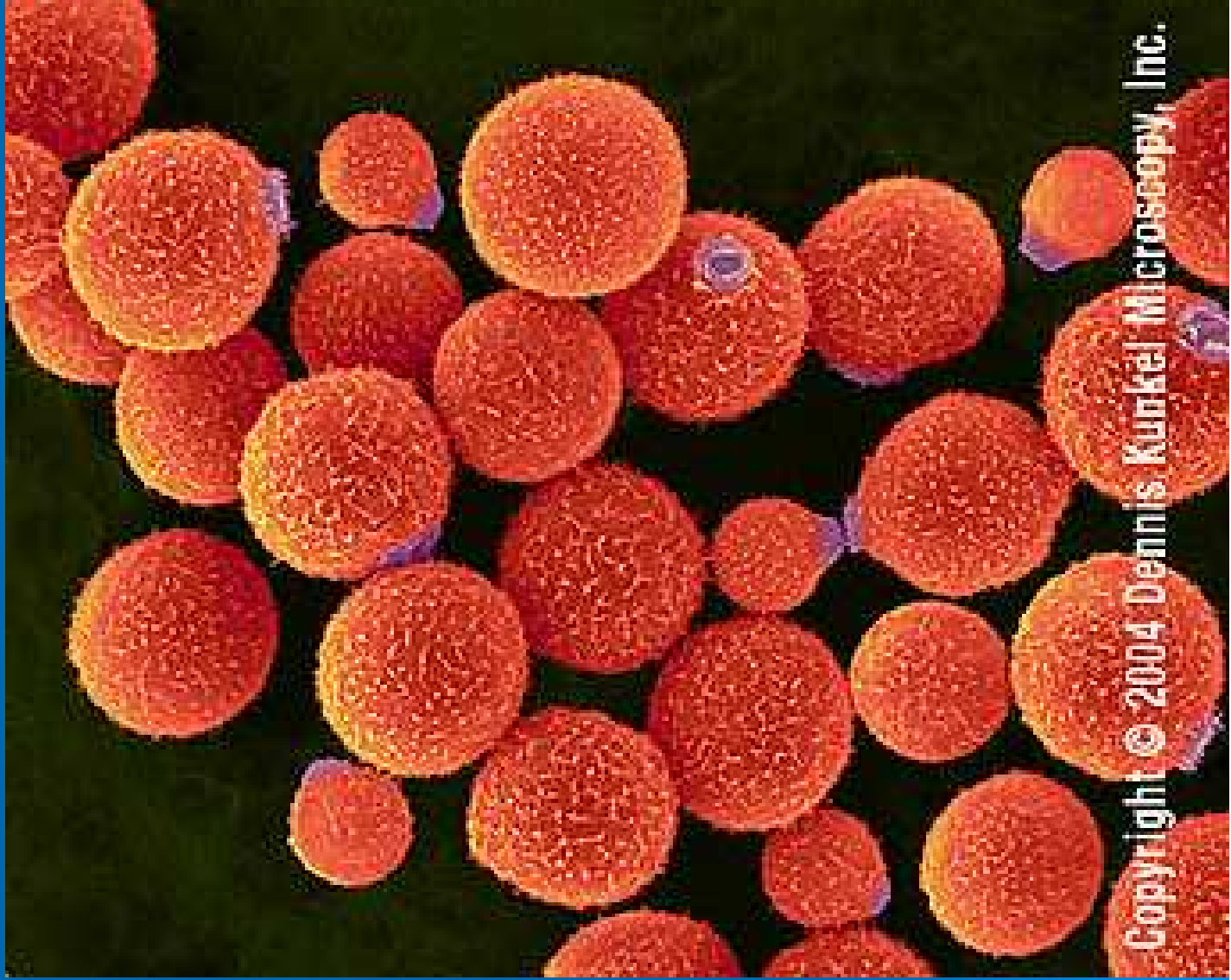


Kožní infekce



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 **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
- izolace z 8,5 % vaginálních mykóz





# *Rhodotorula*

- barevné kolonie (oranžové, červené)
- neasimuluje 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

# Příklady mykóz způsobených dimorfními kvasinkami

sporotrichosis

blastomycosis



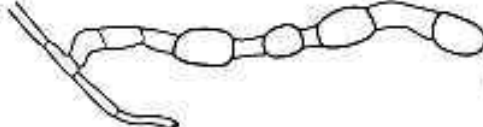
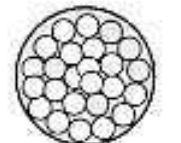
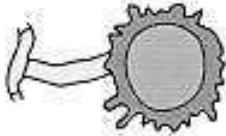
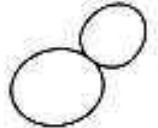
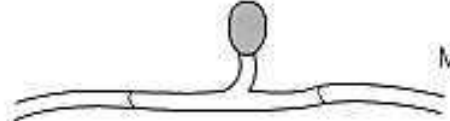

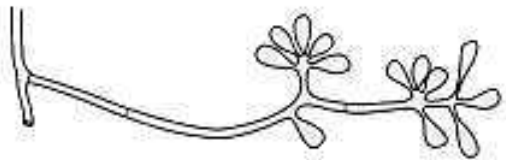
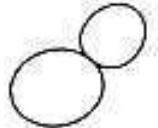
histoplasmosis

coccidioidomycosis

paracoccidioidomycosis

penicillosis

# 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

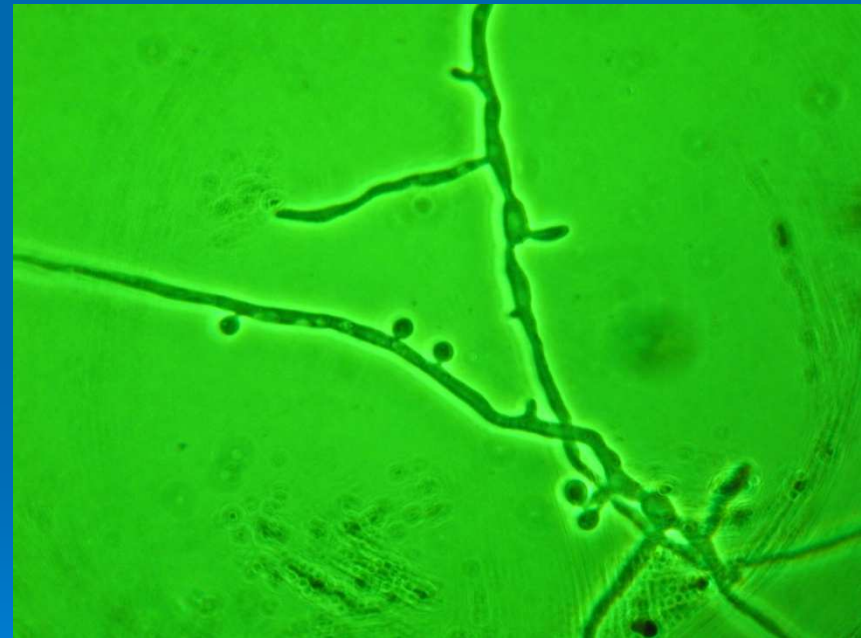
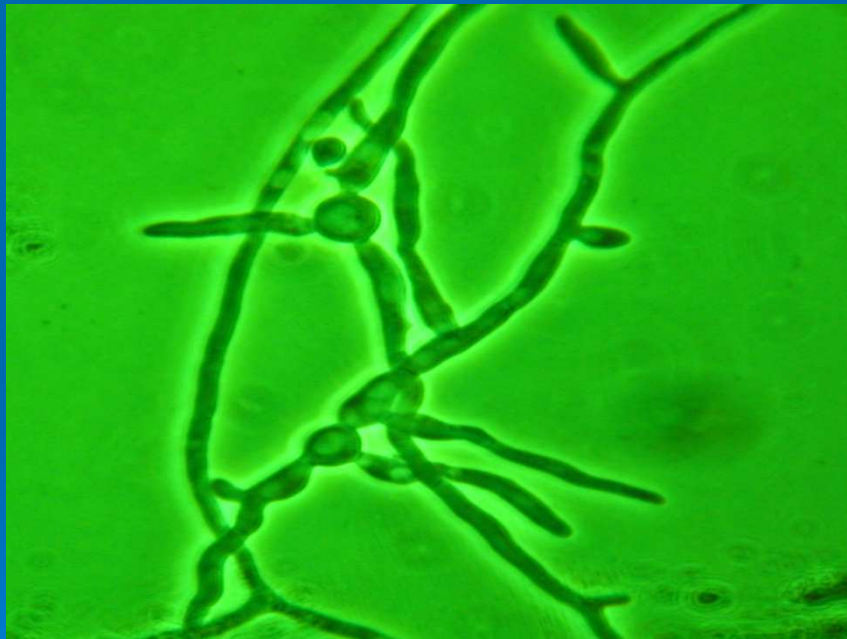
Blastomykóza, kokcidiomykzá, sporotrichóza etc.

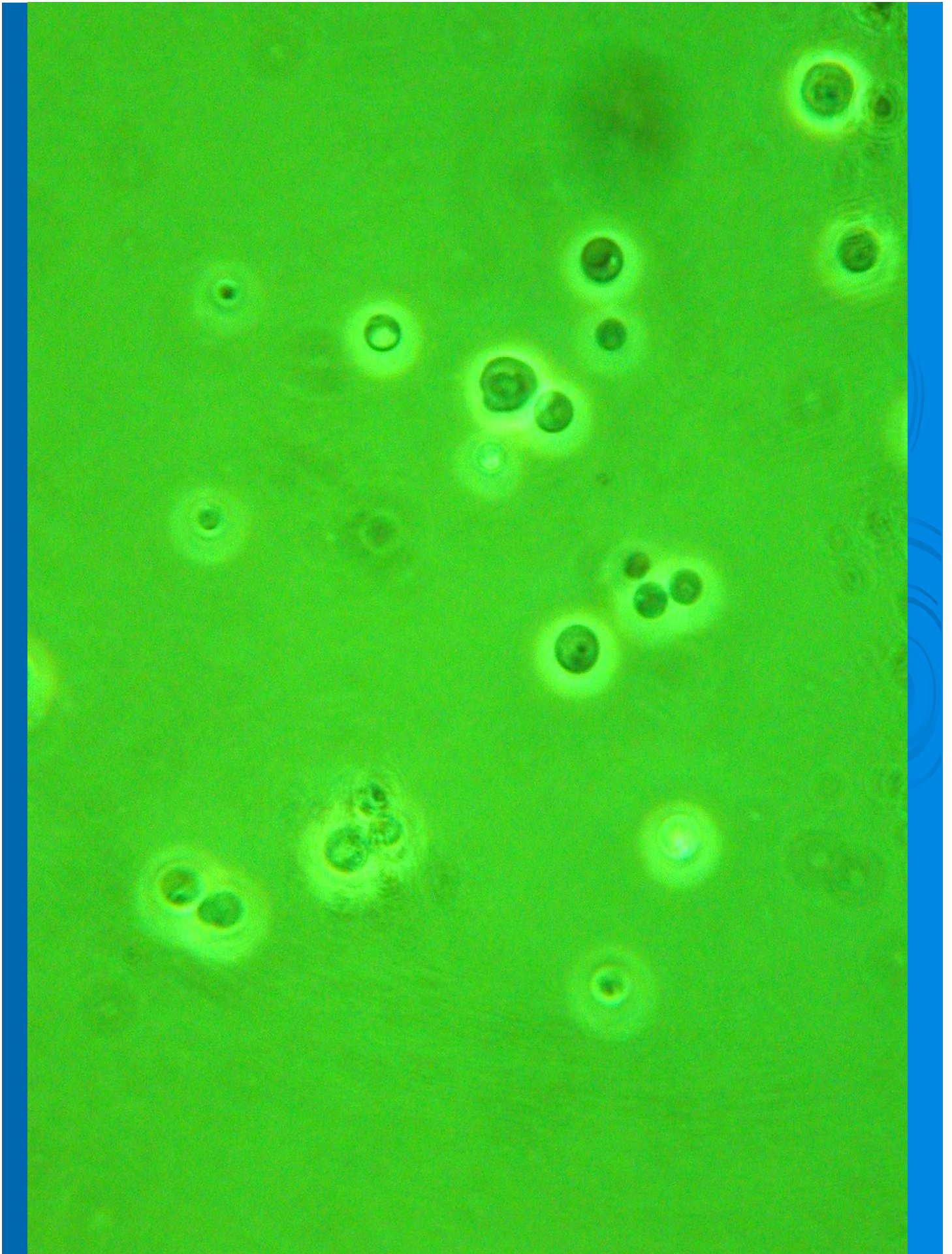


Kožní sporotrichóza

# Sporothrix schenckii

buňky ve fázovém kontrastu – hyfy a konídie





# Sporothrix schenckii

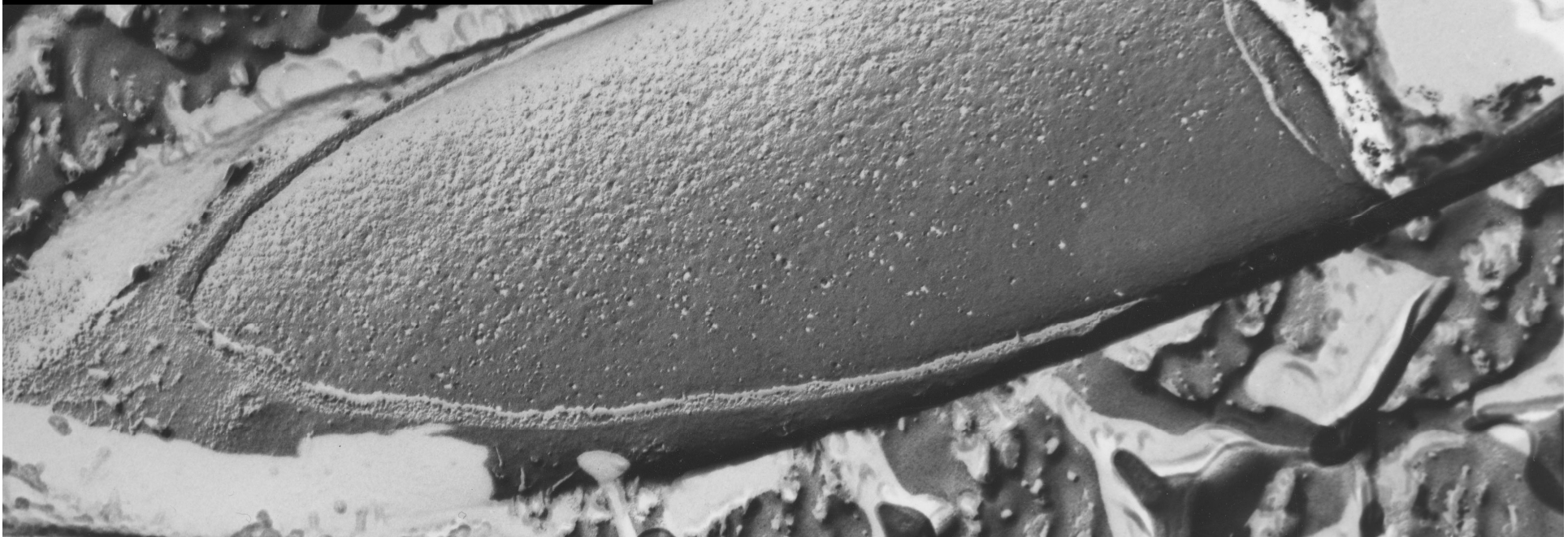
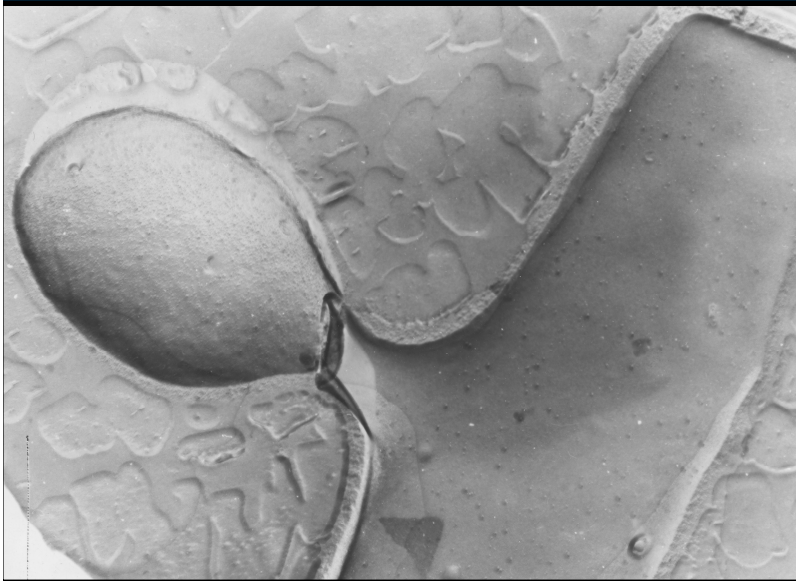
studie buněk freeze fracture technikou





# Sporothrix schenckii

studie buněk freeze-fracture technikou



# Blastomyces dermatitis



Image Courtesy of M. McGinnis  
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation