

Patogenní kvasinky

Prof. MUDr. Augustin Svoboda, CSc.
Biologický ústav LF MU



Kvasinkové patogeny

Candida

Cryptococcus

Malassezia

Trichosporon

Rhodotorula

Hansenula

Torulopsis

Geotrichum

Saccharomyces

onemocnění kvasinkami a plísněmi – mykózy

- 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
- Kvasinky jsou komenzálové člověka
- Vyvolají endogenní infekci (autoinfekci) při porušení homeostázy, zvýšení infekcionity a změny rezistence na léky
- povrchové mykózy – nakažlivé

Povrchové mykózy :

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

➤ Příklady:

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
 - 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, sladidlový agar, hydrolyzát kaseinu + chloramfenikol nebo amikacin + vankomycin)
 - Czapek – Doksův agar
- současně při 25 – 30 C a 37 C
- doba kultivace 1 – 5 dnů

Další diagnostické přístupy:

- kvašení cukrů a další biochemické testy

(identifikační soupravy)

auxanogram – test na asimilaci cukrů a dusíkatých látek

zymogram – test na zkvašování cukrů

Sérologie

Průkaz specifických protilátek:
protilátková odpověď obecně slabá

- **ELISA** (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), technika stanovení koncentrace antigenů nebo protilátek. Principem této metody je imunoenzymatické reakce bezbarvého (chromogenního) substrátu, který je hydrolyzován v barevný produkt a lze měřit spektrofotometricky

Antimykotika:

kvasinky - eukaryontní buňky – běžná antibakteriální antibiotika jsou tedy neúčinná (toxický účinek na hostitele) – kvasinky a plísně jsou eukaryotické buňky, strukturou a metabolismem jsou podobné buňkám lidským

Terčové struktury antimykotik:

buněčná stěna

plasmatická membrána

cytoskelet

RNA

Terčové struktury antimykotik:

buněčná stěna – glukan, mannoproteiny, chitin
plasmatická membrána

místo cholesterolu obsahuje
ergosterol

cytoskelet - kvasinky neobsahují intermediální
filamenta

RNA narušení syntézy bílkovin

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 její perforace.

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

Mechanizmy účinku flucytosinu

- Flucytosin se intrafungálně převádí na cytostatický fluorouracil², který prochází dalšími kroky aktivace a nakonec interaguje jako 5-fluoruridintrifosfát s biosyntézou RNA, čímž narušuje tvorbu určitých esenciálních proteinů.
- Flucytosin také podléhá přeměně na 5-fluorodeoxyuridinmonofosfát, který inhibuje syntézu fungální DNA.

kyselina benzoová

(Whitfieldova mast) – povrchové mykózy



další látky toxické vůči kvasinkám:

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

kyselina benzoová

(Whitfieldova mast) – povrchové mykózy

kombinace antimykotik:



Povrchové mykózy

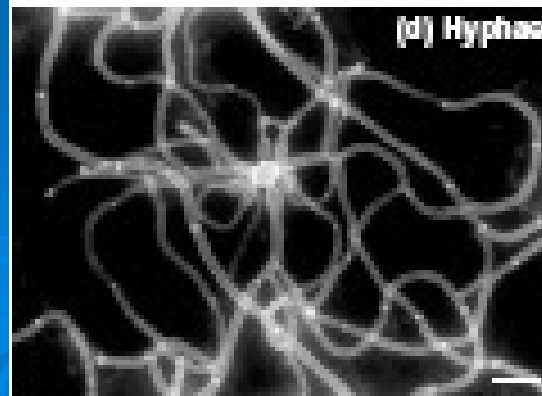
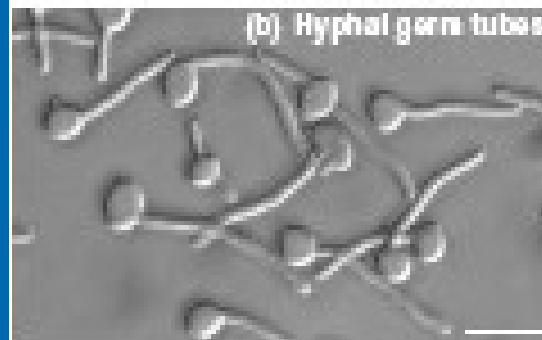
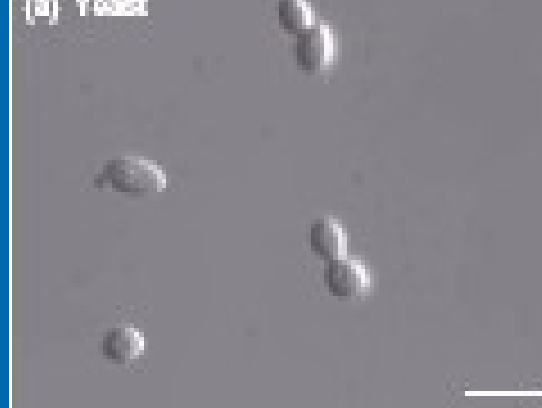
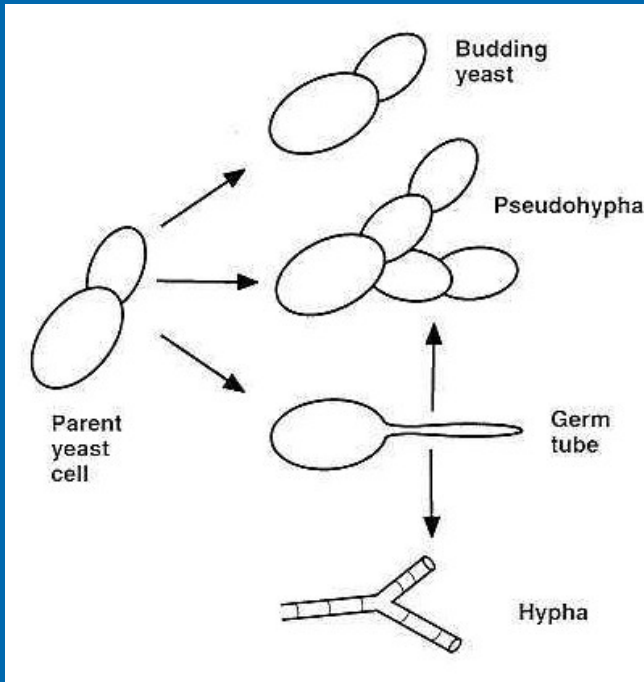
Povrchová kandidóza:

- 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 rostoucí na
ladinovém agaru



Candida albicans





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 (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 zapáčky)
- postižení nehtu a nehtového lůžka – při častém máčení rukou (ošetřovatelky, myčky nádobí)





Candida albicans

studium vlivu antibiotika nystatinu na morfologii
plasmatické membrány





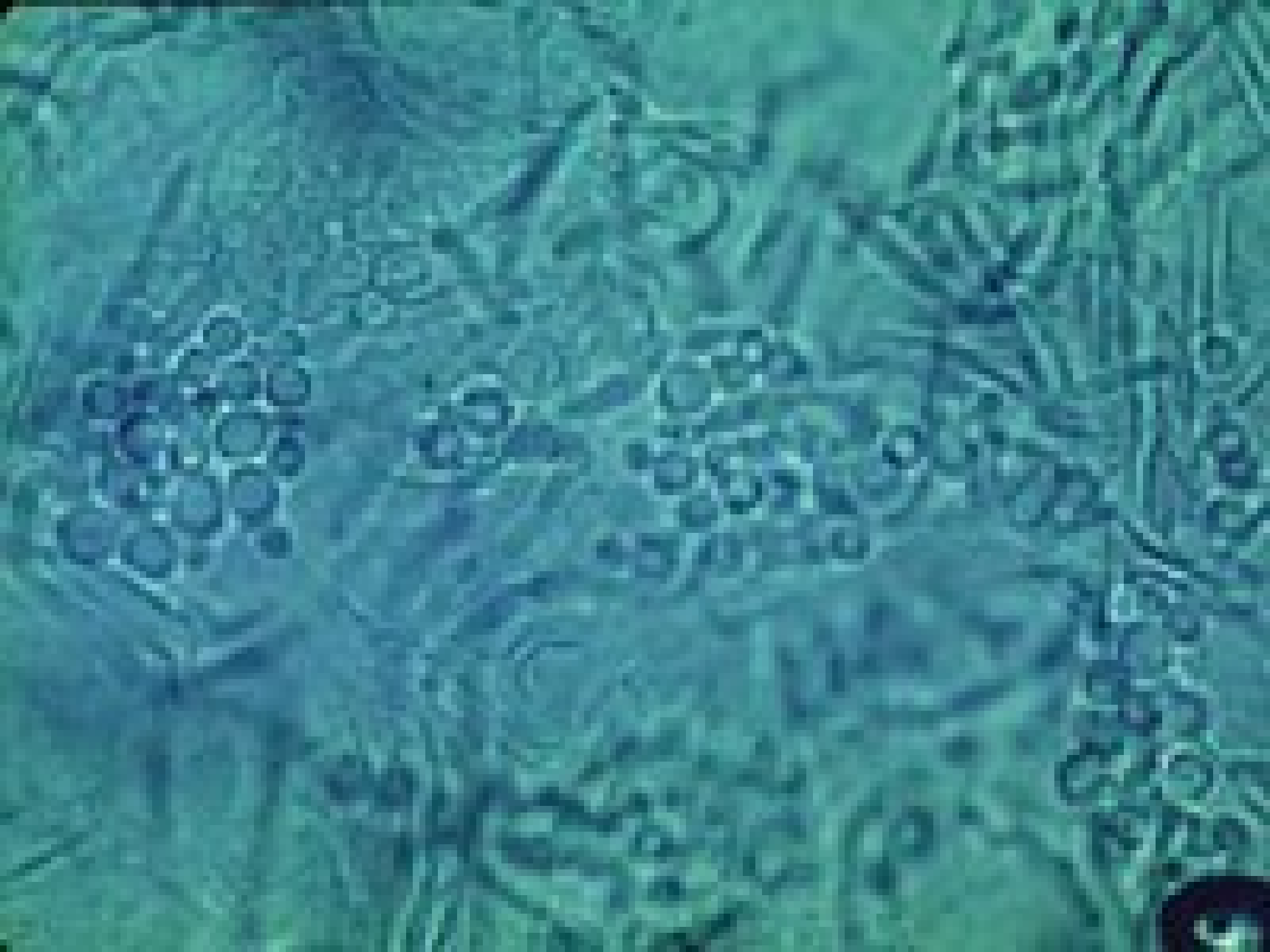
Pityriasis versicolor

- 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





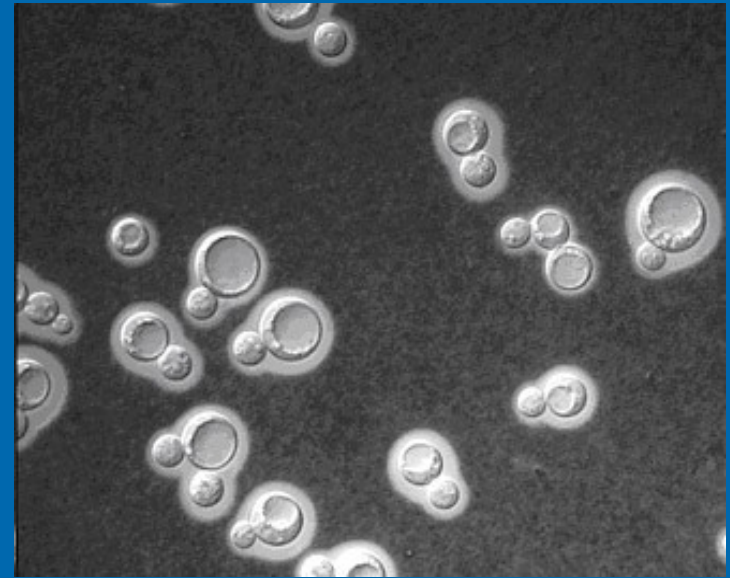
Systemové mykózy

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

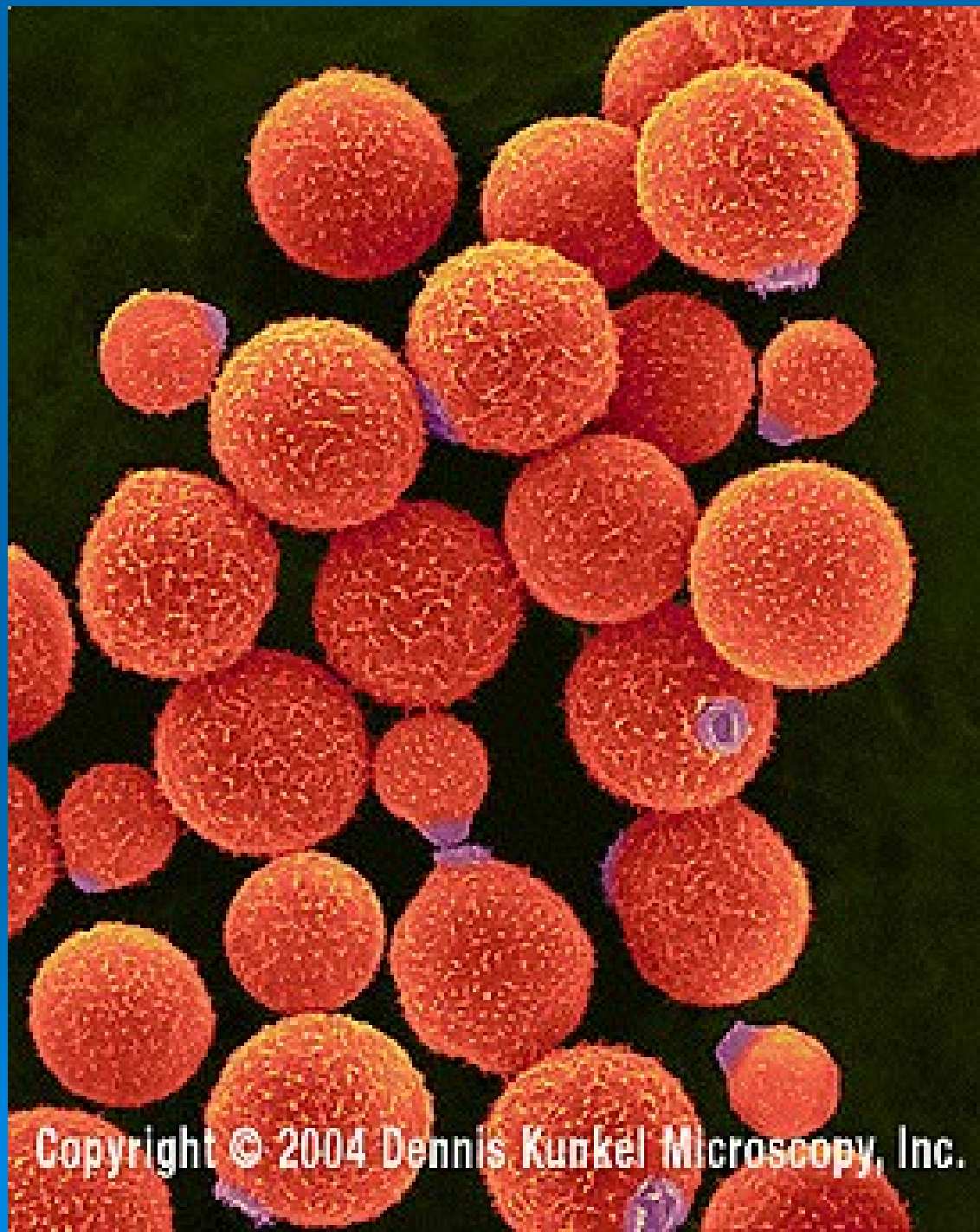


Kožní infekce



Fázový kontrast





Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



Průkaz:

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

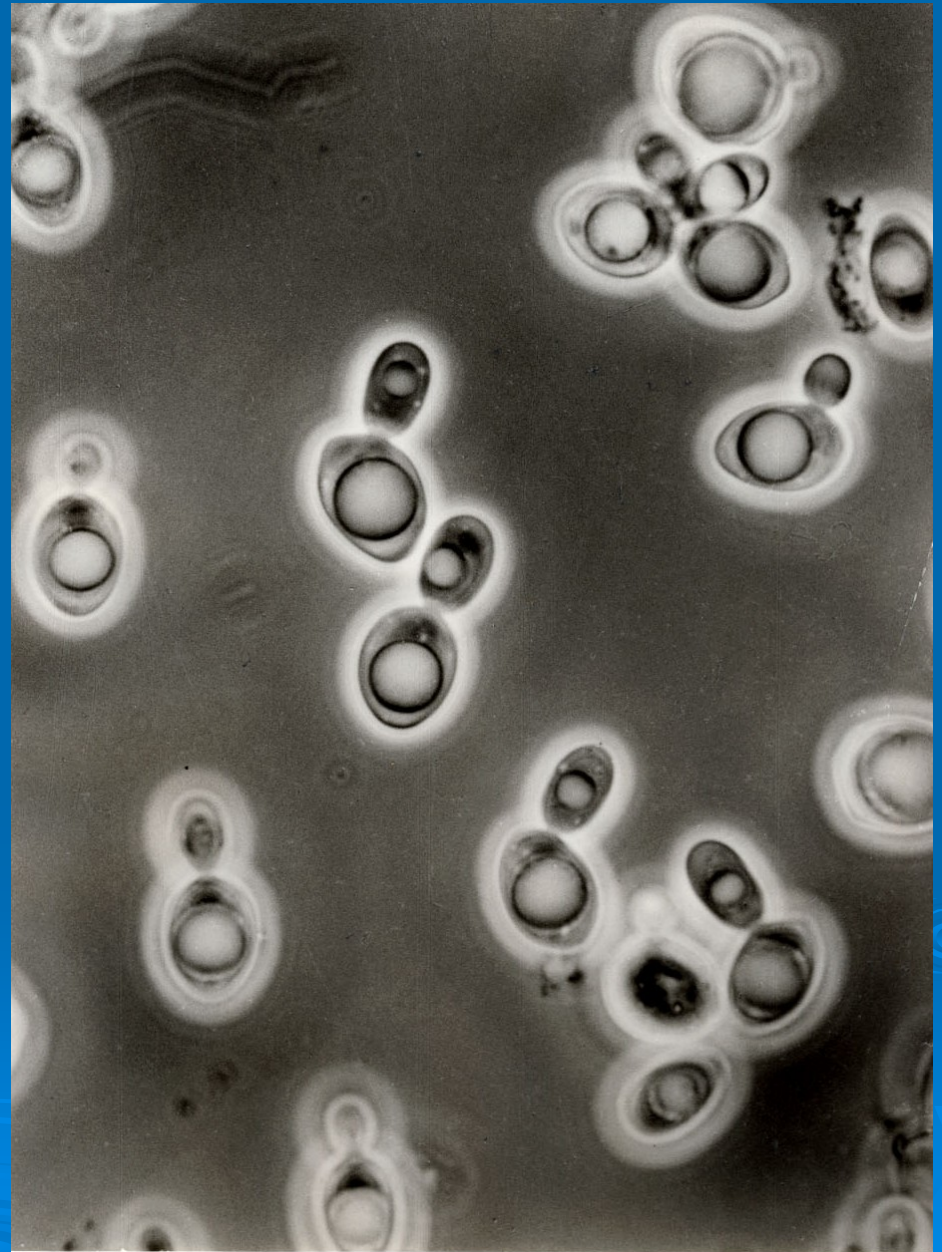
- diseminované infekce
 - oslabení neutropeničtí pacienti se zhoubnými lymfomy
- asimilace pouze glukózy a galaktózy

Geotrichum candidum

- infekce u diabetiků,
imunosuprimovaných osob

Saccharomyces cerevisiae

- sepse 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 lidských onemocnění vyvolaných dimorfními kvasinkami a plísněmi

➤ sporotrichosis

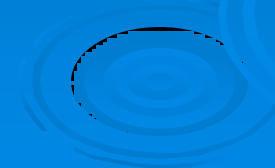
➤ blastomycosis

➤ histoplasmosis


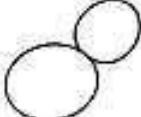
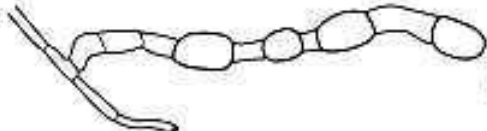
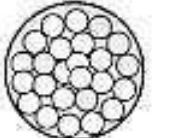
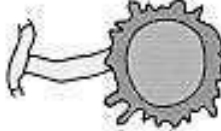
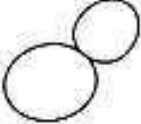
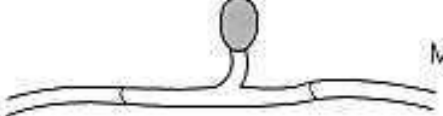


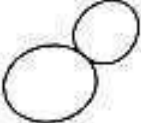
➤ coccidioidomycosis

➤ paracoccidioidomycosis

➤ penicillosis



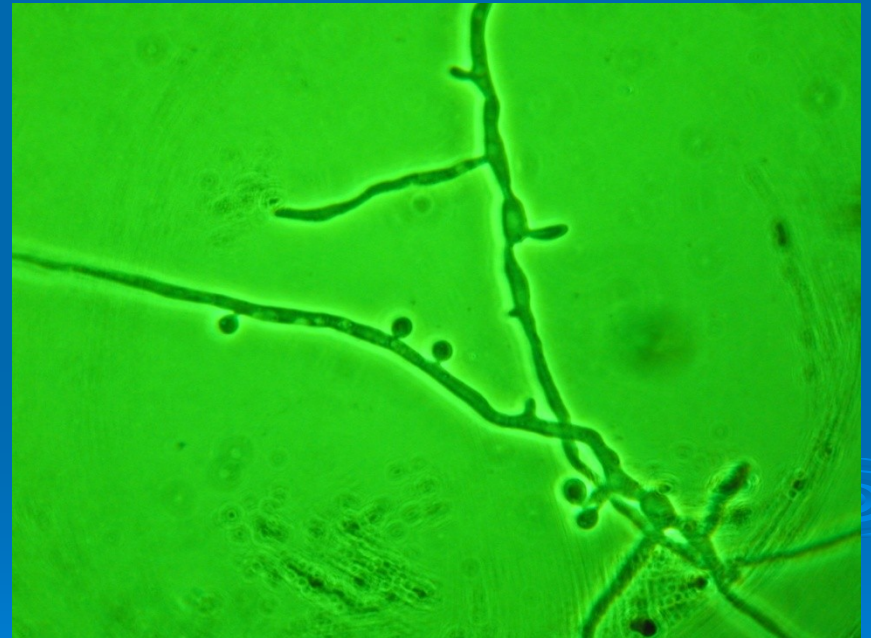
Dimorfní patogenní kvasinky

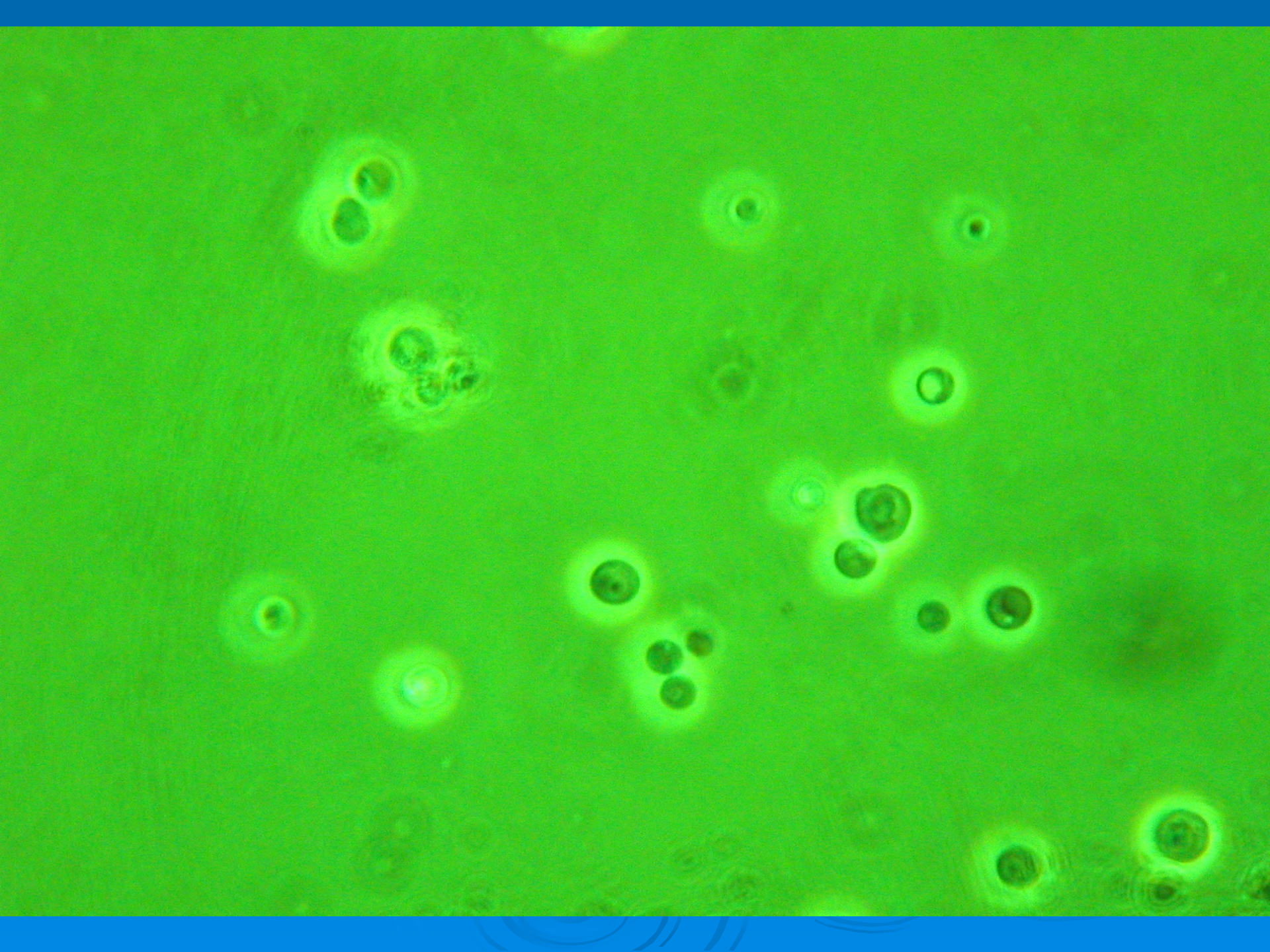
Fungus	In vitro (25° C)	In vivo (37° C)
<i>Blastomyces</i>	 Mold	 Yeast
<i>Coccidioides</i>	 Mold	 Spherule
<i>Histoplasma</i>	 Mold	 Yeast
<i>Paracoccidioides</i>	 Mold	 Yeast
<i>Sporothrix</i>	 Mold	 Yeast

Blastomykóza, kokcidiomykzá, sporotrichóza etc.

Sporothrix schenckii

buňky ve fázovém kontrastu – hyfy a konídie





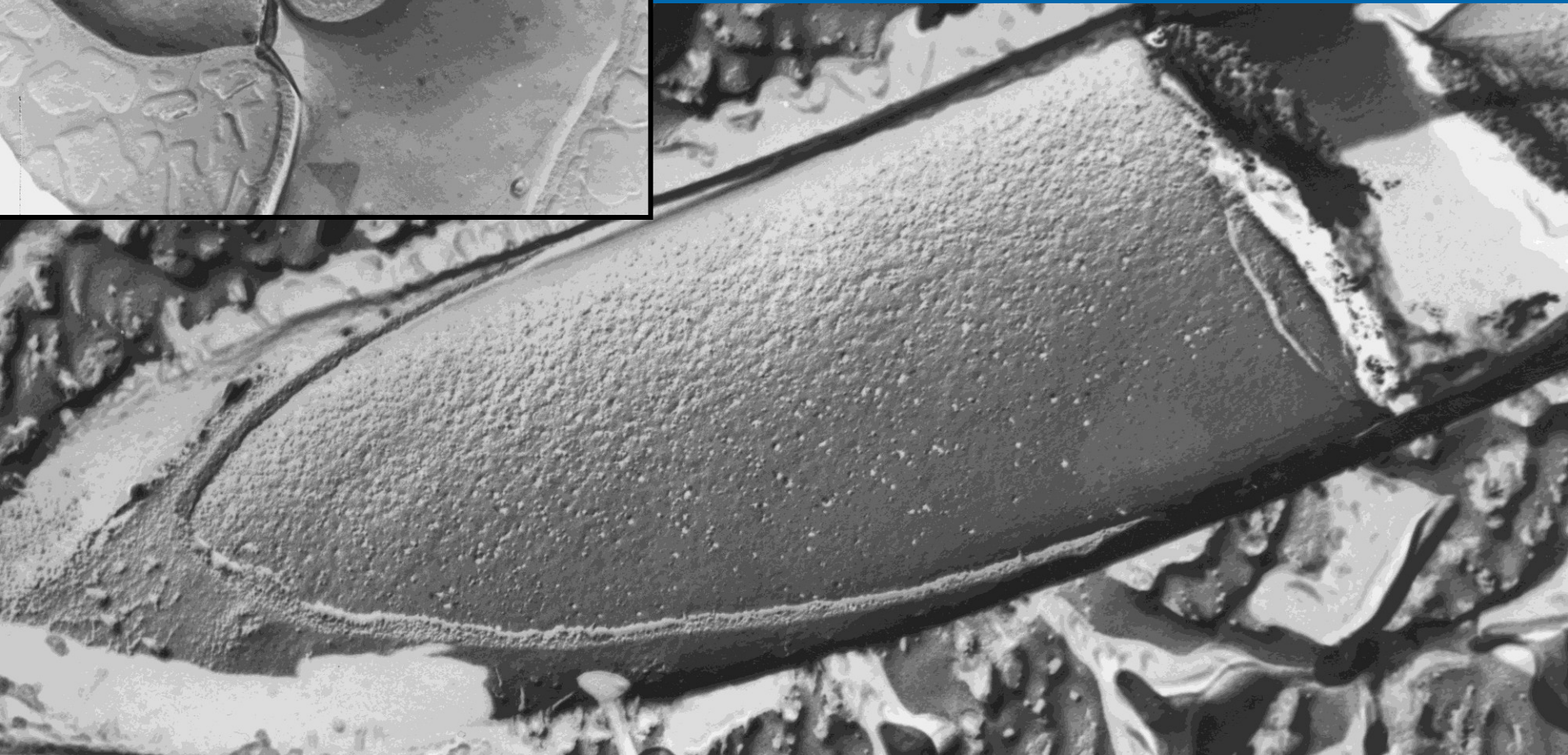
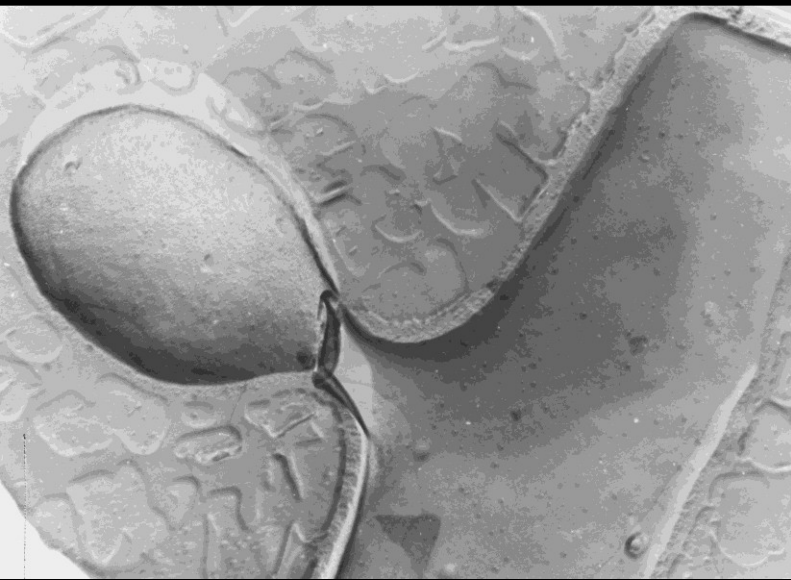
Sporothrix schenckii

studie buněk freeze fracture technikou



Sporothrix schenckii

studie buněk freeze-fracture technikou



Blastomyces dermatitis



Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation