

# MIKROBIOLOGIE PRO ZDRAVOTNÍ LABORANTY

## Předmluva

Tato učebnice vznikla v těsném sepětí s praktickou výukou na střední zdravotní škole. Pro účely konkrétní výuky v konkrétních třídách tu vznikaly pracovní listy, které nejdříve pokrývaly problémové oblasti, pak i ty ostatní, až z nich bylo možno sestavit tuto knihu.

Tato kniha je tedy „slátaninou“ v tom smyslu slova, že je „slátaná“ z jednotlivých částí. Je ovšem zapotřebí říci, že seskládání nebylo jen čistě mechanické a že při něm proběhlo i sladění, sjednocení, revize a aktualizace jednotlivých kapitol.

Když mě poprvé napadlo dát tyto texty dohromady, bylo to proto, aby z nich vznikla učebnice pro střední zdravotnické školy. Mezitím se však začala měnit koncepce výuky zdravotnických laborantů v Česku. Věřím nicméně, že tento učební text bude užitečný jak pro „dožívající“ studenty středních zdravotnických škol, tak i pro nově zřizované vyšší zdravotnické školy a pro bakalářské studium oboru zdravotní laborant na vysokých školách, jen s tím rozdílem, že tito studenti je budou muset využívat více k samostudiu.

Kolegy mikrobiology, kterým se tato kniha dostane do ruky, bych chtěl varovat – obsahuje leckdy zjednodušení až na samé hranici únosnosti (a možná se někomu bude zdát, že až za touto hranicí). Cílem však bylo seznámit budoucí zdravotní laboranty s tím nejdůležitějším, vysvětlit pravidla, a nezahltit je přílišným množstvím detailů a výjimek.

## Úvod do mikrobiologie

MIKROBIOLOGIE je věda o mikrobech čili mikroorganismech. Mikroby jsou mikroskopické živé organismy. Máme-li tedy o něčem prohlásit, že je to mikrob, musí to být zároveň (1) živé a (2) tak malé, aby to bylo vidět jen (optickým či elektronovým) mikroskopem.

Mezi nejdůležitější podobory mikrobiologie patří například:

- „základní“ mikrobiologie – zkoumá mikroby tak, jako zoologie živočichy a botanika rostliny

- průmyslová mikrobiologie – biotechnologie (potravinářská mikrobiologie, výroba různých látek pomocí mikrobů, likvidace znečištění vody a půdy pomocí mikroorganismů apod.)
  - mikrobiologie rostlin
  - mikrobiologie veterinární (klinická veterinární mikrobiologie)
  - mikrobiologie lékařská (klinická humánní mikrobiologie), která bude zajímat nás
- K lékařsky významným mikrobům patří:
- paraziti (= „živočišné“ mikroby) – eukaryotní, někdy i mnohobuněční. Ne všichni paraziti ovšem splňují definici mikroba (třeba taková štěnice je na to příliš velká)
  - houby (= kvasinky a plísně) – také eukaryotní
  - bakterie – na rozdíl od předchozích prokaryotní
  - viry – na rozdíl od všech ostatních nemají vlastní buňku

Zvláštním případem jsou priony – je to vlastně jen chyba v bílkovině a svým způsobem ani o mikroby nejde. Na rozdíl od všech ostatních totiž nemají nukleovou kyselinu.

IMUNOLOGIE je věda o obranyschopnosti organismů proti cizorodým vlivům, zejména proti mikrobům, ale také jiným cizorodým látkám a tělesům, a případně i vlastním tkáním, které začínají být tělu nebezpečné (například nádorovým buňkám).

EPIDEMIOLOGIE je věda o šíření nemocí (především infekčních), o předcházení epidemiím a řešení epidemií, které už vznikly.

HISTORIE MIKROBIOLOGIE: Za objevitele mikrobů je zpravidla považován Antonie van Leeuwenhoek, který sestavil mikroskop a pozoroval v něm objekty, které z dnešního pohledu nepochybně byly bakteriemi. Rozvoj mikrobiologie umožnil zejména Louis Pasteur a Robert Koch.

## Obecná mikrobiologie

*Poznámka: V tomto oddíle se probírají ty části obecné mikrobiologie, které se týkají buďto všech či většiny mikrobů, nebo jen bakterií. To, co se týká jen virů, jen hub nebo jen parazitů, je popsáno v dalších oddílech.*

Obecná mikrobiologie se zabývá obecnou tvarovou charakteristikou mikrobů (morfologií), jejich životními projevy (fyziologií), vztahy k vnějšímu prostředí a k jiným (například hostilekým) organismům. Patří sem vlastně i obecný přehled diagnostických metod, používaných v mikrobiologii, ten je však v této učebnici vyčleněn do zvláštní kapitoly.

Z praktických důvodů se budeme v této části zabývat pouze bakteriemi; obecnou virologii najdete v Základech virologie, obecnou parazitologii v Základech parazitologie a obecnou mykologii v Základech mykologie. Výjimkou jsou ty části, které by nemělo smysl probírat pro každou skupinu mikrobů zvlášť (například desinfekce).

## Morfologie, fyziologie a genetika bakterií

### Morfologie bakteriální buňky

Bakteriální buňka je buňkou prokaryotní. To znamená, že je poměrně jednoduchá, nemá pravé jádro a liší se v řadě dalších charakteristik od buněk eukaryotních (kvasinkových, živočišných či rostlinných). Bakteriální buňka také nemá chloroplasty ani mitochondrie. Předpokládá se ostatně, že mitochondrie jsou svým původem vlastně bakterie, které se natolik sžily se svou hostitelkou buňkou, až se staly její součástí.

Jednotlivé části bakteriální buňky uvádí následující tabulka:

SOUČÁST BUŇKY	FUNKCE	VYSKYTUJE SE
pouzdro (nejvíce zevní vrstva)	ochrana buňky, oklamání obranných mechanismů hostitele	jen u některých
buněčná stěna	ochrana buňky hlavně mechanická, popř. i chemická	skoro u všech

cytoplasmatická membrána (ohraničuje cytoplasmu, tj. „vnitřek“ buňky)	ochrana buňky, ale také metabolismus (spousta chemických dějů se děje na membráně a využívá rozdílu koncentrací) u všech	naprosto nezbytná
bičík (bičíky)	pohyb	jen u některých
fimbrie (pili, brvy)	pohyb, konjugace (sex-pili, viz dále)	jen u některých
cytoplasma	hmota vyplňující buňku, plavou v ní všechny dále uváděné organely	u všech
chromozóm (předchůdce jádra)	základní genetická informace buňky, dává buňce její identitu	u všech
ribozómy	nezbytné pro proteosyntézu (viz dále)	u všech
granula	pohlčené živiny v různém stádiu zpracování	podle momentálního stavu buňky
plasmidy	přidatná genetická informace, není nezbytná (viz dále)	jen u některých

Buněčná stěna není u všech bakterií stejná. Rozeznáváme buněčnou stěnu

- grampozitivní - tlustá, mechanicky odolná, chemicky málo odolná. Skládá se z tlusté vrstvy mureinu a řetězců kyseliny teichoové
- gramnegativní - tenčí, mechanicky méně odolná, chemicky odolnější. Vrstva mureinu je tenká, zato nad ní ještě jedna fosfolipidická dvojevrstva - vnější membrána
- zvláštní typy buněčné stěny mají například původci tuberkulózy (viz Speciální bakteriologie)
- a konečně některé bakterie buněčnou stěnu vůbec nemají.

SPORULACE je proces, který vede k přechodu bakteriální buňky do zvláštního stavu, který lze nepřesně přirovnat k zimnímu spánku, ovšem je mnohem hlubší - bakterie v tomto stavu si vůbec nevyměňují živiny, obsahují jen naprosté minimum vody a vlastně neobsahují nic, co není naprosto nezbytné. To umožňuje sporám přežít nepříznivé podmínky (vysoké teploty, desinfekční prostředky apod.). Až začnou být vnější podmínky zase pro bakterie příznivé, spóra "vyklíčí" - stane se z ní obyčejná bakterie.

### **Metabolismus bakterií**

METABOLISMUS bakterií se skládá z anabolismu (budování za spotřeby energie) a katabolismu (odbourávání za uvolňování energie). To je stejné jako u člověka. Stejně tak i potřeba různých prvků (makro- a mikroelementů) je podobná.

Mezi hlavní typy bakteriálního katabolismu patří:

- aerobní respirace – podobná dýchání u člověka - organické látky se štěpí až na CO<sub>2</sub> a vodu, je nezbytný kyslík jako akceptor elektronů
- anaerobní respirace – akceptorem elektronů je jiný atom, než kyslík - například síra)
- fermentace (nepřesně odpovídá pojmu kvašení) – získá se méně energie, avšak není potřebný kyslík ani jiný akceptor elektronů zvenčí; produktem může být např. alkohol, ocet nebo kyselina mléčná).

### **Genetika bakterií**

Bakterie nemají pravé jádro, jen stočenou dvoušroubovici DNA. Využití genetické informace k tvorbě bílkovin probíhá stejně jako třeba u lidských buněk.

Nejprve se dvojšroubovice dočasně rozdělí a k jednotlivým vláknům se dokompletuje RNA (to je transkripce - tedy přepis z DNA do RNA).

Pak poslouží RNA jako matrice pro tvorbu bílkovin (to je translace - tedy překlad z jazyka nukleových kyselin do jazyka bílkovin). K translaci jsou nutné ribozomy. Bakteriální ribozomy se poněkud liší od ribozómů v eukaryotních buňkách.

Replikace bakterií je první fází rozmnožování buňky. Vlákno se rozdvíjí a ke každému se dotvoří druhé (komplementární). Na rozdíl od eukaryot je proces velmi jednoduchý, není potřebná složitá přestavba jádra apod. Po zdvojení chromozómu následuje zpravidla rozdělení buňky.

PLAZMIDY jsou izolované kousky genetické informace bakterií, které obsahují takové informace, které pro bakterii nejsou nezbytné; mohou však pro ni být výhodné. Může to být schopnost využít nový substrát (třeba nějaký cukr, který bakterie normálně nešťepí), nebo schopnost odolávat nějakému antibiotiku. Plasmidy se mohou do bakteriální buňky přenášet třemi způsoby.

Transdukce je přenos pomocí temperovaného bakteriofága (bakteriofág je vlastně virus, který však nenapadá živočicha, ale bakterii).

Transformace je pochod, kdy se dostane do buňky plasmidová DNA z vnějšího prostředí, například z rozpadající se jiné bakterie.

Konjugace je výměna plasmidů kanálky mezi bakteriemi. Kanálky vznikají spojením tzv. sex fimbrií (to je druh brv - fimbrií. Těm, které konjugaci nezprostředkovávají, se říká common fimbrie - "obyčejné").

## **Růstová křivka bakterií**

Kultivujeme-li bakterie v omezeném prostoru, můžeme pozorovat několik fází: první je lag-fáze (není viditelný růst - bakterie se "připravují" na růst), následuje logaritmická fáze, pak fáze zpomalení a fáze stacionární.

Pokud by prostor byl neomezený, byl by růst neustále logaritmický. Zdá se, že je to jen nesmyslná úvaha, ale není to tak docela pravda: pokud totiž z prostředí soustavně odebíráme přebytečné bakterie a produkty metabolismu a naopak přidáváme substráty, navodíme podmínky, které odpovídají takovému neomezenému růstu.

## **Pojem „kmen bakterie (mikroba)“**

Zatímco třeba botanici či zoologové pracují s jednotlivými jedinci, mikrobiologové většinou pracují s populacemi o mnoha milionech jedinců, které ale vzešly z jedné buňky a mají všechny stejné vlastnosti. Takové populaci se říká kmen (bakterie, ale i kvasinky apod.). S kmenem se toho dá provádět mnohem víc než s jednotlivým mikroblem, izolace kmene byla umožněna objevem kultivace na pevných půdách (viz dále v diagnostice) a tento objev proto patří k zásadním průlomům v dějinách mikrobiologie.

## **Patogenita a virulence mikrobů**

Patogenních mikrobů je ze všech mikrobů vlastně velice málo. PATOGENITA je vlastnost určitého bakteriálního druhu ve vztahu k danému makroorganismu (v našem případě člověku, jindy zvířeti, rostlině). Z hlediska patogenity existují tři skupiny mikrobů:

1) **Nepatogenní: nejsou schopni** vyvolat nemoc, většinou proto, že se vůbec neumějí v makroorganismu (= člověku) uchytit. Opačná možnost - tedy že jsou naopak tak dobře adaptované na člověka, že s ním dokáží soužít, aniž by vyvolávaly nemoc - je také možná, jenže většinou je tu vždycky alespoň někdy možné, že za určitých podmínek nemoc nastane. Pak tyto mikroby patří pod bod 2).

2) **Potenciální (oportunističtí) patogeni** jsou takové mikroby, které vyvolávají chorobu jen někdy, jindy jsou "hodné". Například *Escherichia coli* je běžnou flórou ve střevě, ale zároveň nejčastějším původcem močových infekcí.

3) **Obligátní (primární) patogeni** jsou mikroby, které vyvolávají nemoc vždy, když se setkají s makroorganismem. Toto "vždy" je ale tak trochu relativní (záleží na počtu mikrobů, způsobu, jakým se člověk s mikroblem setká, apod.)

Patogenita (ať už se týká obligátních nebo potenciálních patogenů) je podmíněna třemi vlastnostmi mikroba:

- 1) **Přenosnost** z hostitele (zdroje) na další organismus (osobu)
- 2) **Nakažlivost** - schopnost narušit obranu hostitele
- 3) **Virulence** - schopnost mikroba nějak poškodit hostitele .

Na rozdíl od patogenity představuje VIRULENCE okamžitou vlastnost konkrétního kmene mikroba.

Dalo by se také říci, že

- 1) nepatogenní mikroby jsou takové, jejich žádný kmen není virulentní
- 2) potenciálně (oportunně) patogenní jsou ty, které mají kmene avirulentní (nevirulentní) a pak kmene virulentní (případně i méně a více virulentní).
- 3) obligátně patogenní jsou ty, jejichž kmene jsou vždy virulentní; nemusí být ale vždycky stejně virulentní.

FAKTORY VIRULENCE:

1. Ty, které se podílejí na **kolonizaci hostitele**: řasinky (latinsky pili či fimbrie), bičík, různé další tzv. adhesiny. **BIČÍK** umožňuje pohyblivost bakterií.

2. Ty, které u některých mikrobů zabezpečí **invazi** (vniknutí mikroba do tkání). Jsou to různé enzymy, štěpící vazivo, faktory, zabezpečující virům a některým bakteriím vstup přímo buněk, a podobně.

3. **Toxiny** (jedy), které bakterie (případně houba či prvok - viry jsou na to moc malé) produkuje navenek. Důležité z nich jsou zejména:

A. **Neurotoxiny**, které ovlivňují nervovou soustavu. Například tetanický toxin působí křeče, botulotoxin naopak obrny.

B. **Enterotoxiny**, které působí ve střevě (výsledkem je průjem, popř. i zvracení).

C. **Místní (lokální) toxiny**, které nepůsobí v celém organismu, ale jen místně ve tkáni.

D. Zvláštním případem je tzv. **endotoxin**, což není volná molekula, ale povrchová struktura gramnegativních bakterií. Uplatní se zpravidla až po rozpadu bakterie ("Pravé" toxiny, uvolňované bakteriemi do prostředí, se někdy označují jako exotoxiny).

V některých případech působení mikroba vůbec nemá charakter nákazy (infekce), nýbrž se vlastně jedná o toxikózu (otravu jedem): do organismu nevnikne mikrob, ale jen jeho toxin. Tak tomu je např. u botulismu, stafylokokové enterotoxikózy apod.

4. Faktory, které se bodílejí na **boji s obrannými mechanismy hostitele**: např. pouzdra čili kapsuly, které zabraňují pohlcení mikroba buňkou makroorganismu, různorodost antigenních variant (u chřipky) aj.

**VSTUPNÍ BRÁNA INFEKCE** je pojem, který označuje místo, kudy mikrob do těla pronikl. Málokdy je to kůže, mnohem častěji různé sliznice. Těsně souvisí s cestou přenosu nákazy.

**FORMA INFEKCE** může být jednak A. **LOKÁLNÍ** nebo B. **CELKOVÁ**, jednak 1. **bezpříznaková** (asymptomatická, inaparentní) nebo 2. **příznaková** (symptomatická). Někdy se také hovoří o abortivní formě infekce v případě, kdy nemoc proběhne, ale namísto typických příznaků dojde jen k nespecifickým celkovým ("chřipkovým") příznakům.

**VYLUČOVÁNÍ MIKROBA Z TĚLA** se u místních infekcí děje zpravidla jen jedním způsobem (u dýchacích infekcí vzduchem, u střevních stolicí apod.), u celkových se způsoby kombinují a zpravidla se mění v průběhu infekce.

## Baktérie a vnější prostředí

Baktérie (a podobně i ostatní mikroby) jsou velmi citlivé na změny vnějšího prostředí. Na ose, znázorňující kvantitu nějakého faktoru (třeba teplotu), můžeme určitou hodnotu definovat jako optimální. To je hodnota, při níž se bakteriím daří nejlépe. Když se hodnota zvyšuje nebo snižuje, narazíme nejprve na inhibiční mez, kdy je inhibován (zastaven) růst bakterií, a nakonec na

baktericidní mez, kdy jsou mikroby nevratně ničeny (usmrceny). Faktorem, o němž je řeč, může být kromě teploty také třeba tlak, vlhkost, koncentrace nějaké chemické látky apod. Pokud hovoříme o nějaké chemické látce, která baktériím škodí (desinfekční činidlo, antibiotikum – viz dále), používají se pro výše uvedené meze pojmy minimální inhibiční koncentrace a minimální baktericidní koncentrace.

Faktory se navzájem kombinují; především se vždycky kombinují s časem. Proto vyšší teploty ničí bakterie za kratší dobu, než teploty nižší. - Lékařsky významné bakterie jsou obvykle nastaveny na podmínky, jaké mohou naléznout v lidském (nebo zvířecím) organismu: 37 °C, 0,9 % NaCl apod. Bakterie s optimum kolem 37 °C se nazývají mezofilní, ty, které mají optimum vyšší, termofilní, pokud nižší, jsou psychofilní.

Praktický význam těchto mezí:

**1. Baktericidní meze** jsou významné pro boj s mikroby (sterilizace, desinfekce) - hodnoty působících faktorů musí být nastaveny tak, aby byly bakterie usmrceny.

**2. Inhibiční meze a optimální hodnoty** jsou důležité pro pěstování (kultivaci) bakterií. Je důležité vědět, že různé bakterie se liší (často velmi podstatně) ve svých nárocích na teplotu, vlhkost, koncentrace solí apod. Jednak je při kultivaci konkrétní bakterie důležité vytvořit jí vhodné podmínky, jednak lze rozdílů mezi druhy a rody bakterií použít také při jejich určování (roste na půdě s vysokou koncentrací solí? je to stafylokok; neroste tam? není to stafylokok).

## Dekontaminační metody

jsou fyzikální a chemické postupy určené především k likvidaci zdraví ohrožujících organismů - mikrobů (sterilizace, desinfekce), hmyzu (desinsekce) a hlodavců (deratizace). Některými metodami se ovšem zlikvidují všechny (mikro)organismy. Při použití všech těchto metod je důležité dodržení několika zásad. Je nutno především:

- Vybrat **vhodnou sterilizační/desinfekční metodu nebo prostředek**. Pojem "vhodný" znamená:
  - musí bezpečně ničit ty organismy, které připadají v daném prostředí v úvahu
  - nesmí ničit desinfikovaný či sterilizovaný materiál (povrch, pokožku...)
  - musí být prakticky použitelný (z ekonomických hledisek, provozních apod.)
- Použít **dostatečnou intenzitu faktoru** - dostatečnou teplotu, intenzitu záření, dostatečnou koncentraci přípravku apod.
- Příslušný **faktor musí působit dostatečně dlouho** (často se nedodrží - sestra poře kůži desinfekcí a hned už píchá injekci!)

Protože koncentrace, teploty a působení jsou u každé metody a u každého prostředku jiné, je vhodné mít po ruce dostatečně čerstvý přehled těchto čísel. Vhodná je např. knížka Desinfekce a sterilizace, vydaná před časem nakladatelstvím Grada. Důležité je také mít k dispozici platnou vyhlášku (v současné době platí vyhláška číslo 207 z roku 1992).

## Sterilizace

Je to postup (obvykle fyzikální), kterým jsou zničeny všechny mikroby (včetně virů, hub a bakteriálních spor). Nejčastěji se používá:

1. Sterilizace **horkou parou pod tlakem** (autoklávování). Pára musí být právě nasycená (to znamená, že kdyby obsahovala jen nepatrně více vody, začala by se voda srážet). Hodí se na předměty ze skla, kovu, keramiky, kameniny, porcelánu, textilu, gumy a některých plastů. Používané parametry (uvádím je jen pro vaši informaci - zkušet budu jen rozmezí teplot a tlaků):

Teplota	Tlak		Přetlak		Doba expozice
°C	kPa	atm	kPa	atp	min
115	170	1,7	70	0,7	35

120	200	2	100	1	20
125	240	2,4	140	1,4	15
134	300	3	200	2	10

2. Sterilizace **horkou vodou pod tlakem** - pouze u chirurgických nástrojů k okamžitému použití. Málo se používá také sterilizace **horkým olejem**.
3. Sterilizace **horkým vzduchem** (u přístrojů s nucenou cirkulací vzduchu 180 °C 20 minut nebo 170 °C 30 minut nebo 160 °C hodinu). Hodí se na kovy, sklo, porcelán a kameninu.
4. Sterilizace **ohněm** se používá prakticky jen u mikrobiologických klíčků, protože většinu materiálů silně poškozuje. Spalování se hodí u odpadů.
5. Sterilizace **gama zářením**: používá se pouze při průmyslové výrobě, např. rukavic na jedno použití.
6. **Chemická sterilizace parami** formaldehydu nebo ethylenoxidem (musí být přesně dodržěn postup). Používá se tam, kde nelze použít fyzikální metody.
7. **Paskalizace** je sterilizace tlakem v potravinářství
8. **Odstatní metody: frakcionovaná sterilizace, filtrace roztoků aj.** jsou speciální, používají se výjimečně

### Vyšší stupeň desinfekce

je nový pojem, který znamená "něco mezi sterilizací a desinfekcí". Tento postup na rozdíl od sterilizace nemusí zničit například cysty prvoků nebo vajíčka červů.

Používá se **glutaraldehydu**, **Sekuseptu** nebo **Persterilu** (vyhláškou je dáno, jaké koncentrace je potřeba použít - vždy jsou vyšší než pro běžnou desinfekci). Vyšší stupeň desinfekce slouží například k ošetřování flexibilních endoskopů s vláknovou optikou, popř. i jiných přístrojů, u kterých nelze použít žádné metody sterilizace.

### Desinfekce

Je to chemický nebo i fyzikální postup, kterým se ničí původci nemocí. Obvykle však nejsou ničeny všechny mikroby. Dobrá desinfekce je taková, která ničí všechny PATOGENNÍ mikroby, které se v daném prostředí vyskytují. Dobrá desinfekce tedy nemusí postihovat původce tuberkulózy, pokud se v daném místě nevyskytuje. Stejně provedená desinfekce v tuberkulózní léčebně by ovšem byla desinfekcí špatnou.

#### A. FYZIKÁLNÍ METODY

1. Var: a) za normálního tlaku - ve zdravotnictví alespoň 30 minut. V kuchyni i méně, ale jídlo se musí provařit (i uvnitř!), b) v tlakových hrncích - zkrácení času - ani v tom případě však nejde o sterilizaci!!!
2. Jiné fyzikální metody - filtrace, žihání, slunění, UV záření apod.

#### B. DESINFEKČNÍ PROSTŘEDKY

- **Oxidační činidla**
3. Výborné jsou **peroxydy**, zvláště kyselina peroctová ( $\text{CH}_3\text{COOOH}$ , u nás Persteril). Působí i na spory, houby, a tuberkulózu; 0,5 % roztok spadá pod pojem vyšší stupeň desinfekce. Nevýhodou je agresivita na sliznice i materiály, např. kovy, odbarvování textilií a nestabilita roztoků.
  4. Peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) - podobný, méně agresivní, také ale méně účinný.
  5. Dobré jsou i **halogenové preparáty**. Z chlorových je to chlornan sodný ( $\text{NaOCl}$ ), u nás Savo s všestranným použitím. Také chlornany jsou bělidlem. Chlornan vápenatý ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ; chlorové vápno) se hodí k hrubé desinfekci velkých ploch. Dříve se sypal do suchých záchodů, avšak hygienický přínos byl sporný a ekologický negativní.
  6. Chloramin je prášek (Chloramin B; Chloraminy BM a BS jsou s přísadami).
  7. Jodovou tinkturu se ošetřovaly drobných rány. Pak se zjistilo, že alergizuje a je agresivní, dnes se ale ukazuje, že to zase není tak hrozné. Přesto lepší jsou prostředky

- jako je Jodonal B a Jodisol, kde je jód vázán v komplexu. Jodonal B by měl dostat u nealergických pacientů před Ajatinem při ošetřování chirurgických ran.
8. Manganistan draselný se již neužívá.
    - **Alkoholy, fenoly a aldehydy**
  9. Formaldehyd se samotný používá spíše jako konverzační činidlo a k uchování očkovacích látek. Často se však aldehydy (vedle formaldehydu především glutaraldehyd) používají ve směsích, např. s tenzidy.
  10. Kresol (Iysol) je účinný, pro zápach a agresivitu se již téměř neužívá.
  11. Ethylalkohol není příliš účinný; když už, tak nejúčinnější je asi 70 % vodný roztok, koncentrovaný je neúčinný. Ani zapálením etanolu není dostatečně účinné a navíc hrozí požárem.
    - **Kvarterní amonné soli a tenzidy**
  12. Orthosan BF 12 k desinfekci např. povrchů - pozor, některé jiné Orthosany nejsou desinfekční prostředky, např. Orthosan BF 40 je na vši!
  13. Ajatin - běžný pro desinfekci pokožky. Není agresivní a nealergizuje. Jeho účinnost nedosahuje parametrů oxidačních činidel.
  14. Septonex se užívá na kůži, nejen jako desinficiens, ale také jako antiseptikum. Při dlouhodobém používání je ale pravděpodobně karcinogenní.
    - **Anorganické kyseliny a louhy** - hrubá df. v zemědělství a průmyslu
    - **Těžké kovy** - zřídka, např. k ochraně budov před plísněmi - Lastanox
    - **Kombinované přípravky**

Např. Incidur, Spitaderm, Sterilium, jinak nemá smysl uvádět konkrétně, neboť se stále mění. Nových desinfekčních prostředků se objevuje stále mnoho. Upoutávají moderními obaly a vůní, ne všechny jsou ale účinné, někdy jde vlastně jen o tekuté mýdlo a ne o desinficiens. Je vždycky potřeba zjistit konkrétní údaje o tom, k čemu se prostředek hodí, na které mikroby je účinný, v jaké koncentraci se používá. V případě pochyb se lze obrátit o radu na nejbližší hygienickou stanici.

## **Desinsekce**

znamená odhmyzení. Provádějí si ji lidé sami prostředky nakoupenými v drogerii, nebo (např. u velkého přemnožení švábů) profesionální pracovníci. POZOR! Hmyz často po určité době přestává být citlivý. I proti vším je dnes účinného něco jiného než dříve. V případě pochyb je vhodné informovat se na hygienické stanici.

## **Deratizace**

znamená zbavení domu (bytu, skladu, prodejny...) hlodavců. Některé deratizační prostředky si lze koupit, většinou jde ale o prudké jedy, které patří do rukou odborným deratizačním firmám. Práci firem, které provádějí desinsekci a deratizaci, kontroluje hygienická stanice. Použití jednotlivých nástrah a jejich rozmístění tak, aby byly účinné, vyžaduje zkušenost.

## **Příprava před dekontaminací a uchování dekontaminovaných předmětů**

**Před dekontaminací.** Chirurgické nástroje jsou často mechanicky znečištěny a musí se před desinfekcí umýt. Pozor!!! Mytí = odplavení nečistot, kdežto desinfekce = usmrcení patogenů! Mechanická očista obvykle předchází před desinfekcí. Výjimkou je desinfekce rukou kde je to naopak (jinak by se infekční částice rozprašovaly proudem vody).

**Po dekontaminaci.** Při použití par (formaldehydových, persterilových...) je nutno předměty řádně odvětrat. Je také nutno dbát na omezenou trvanlivost různých dekontaminačních postupů. Například v papírových sáčcích vydrží předměty sterilní 3 měsíce, je-li sáček uzavřen lepením, avšak jen 4 týdny, je-li uzavřen pouze sešíváčkou. To vše stanoví vyhláška.

## **Kontrola účinnosti dekontaminace**

Orientačně - smyslově - např. pomocí charakteristického zápachu



Stanovení skutečné koncentrace desinfekčních prostředků (chemicky)  
 Chemická kontrola sterilizace využívá indikátorů, které při určité teplotě mění vlastnosti (např. zbarvení). Způsob biologický užívá odolné kmeny *Bacillus subtilis* či *B. stearothermophilus*.

### Nejdůležitější df. prostředky - koncentrace

Název	Hygienická desinf. rukou		Desinfekce povrchů	
	Koncentrace	Doba expoz.	Koncentrace	Doba expoz.
Ajatin	konc. tinktura	do zaschnutí	2 % roztok	do zaschnutí
Chloramin B	0,5 %	1 min	2 - 3 %	do zaschnutí
Incidur	-----	-----	0,5 %*; 3 %**	4 h*; 15 min**
Jodonal B	1 %	1 min	0,5 - 5 %	30 min
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3 %	zaschnutí	-----	-----
Persteril	0,2 %	1 min	0,2 - 0,5 %	10 min
Savo	-----	-----	5 - 25 %	do zaschnutí
Septonex	spray	zaschnutí	0,5 % roztok	do zaschnutí

Tato tabulka je pro Vaši informaci, zkouší se jen Chloramin B a persteril.

### Mechanická očista (omývání)

nemůže nahradit desinfekci, ale také naopak desinfekce nemůže nahradit omytí. Mechanické nečistoty brání prostupu desinfekčního prostředku či třeba par formaldehydu na správné místo, proto je sterilizace či desinfekce bez omytí zbytečná. Viz též "Příprava před/po dekontaminací".

### Asepsa a antiseptika

Asepsa a antiseptika jsou pojmy, které souvisejí s pojmy jako desinfekce, sterilizace apod., ale nesou v sobě jiný úhled pohledu. Nejde tu o to, který škodlivý organismus (všechny mikroby, patogenní mikroby...) má být zničen, ale o to zda jde o pasivní či aktivní přístup.

ASEPSE vychází z toho, že dané prostředí je primárně sterilní či přinejmenším zbavené patogenů. Aseptické postupy jsou tedy takové, které pasivně brání vniknutí infekce do takového prostředí. Patří sem vše od stavebního uspořádání operačních traktů (odděleně od ostatního nemocničního provozu) přes používání důsledně jednorázových nebo sterilizovaných nástrojů a materiálů až po režimová opatření. Asepticky se ale musí pracovat nejen na oddělení u pacienta, ale i v laboratoři při zpracování vzorků - cílem je nekontaminovat vzorek mikroby z prostředí, což by znamenalo falešné (falešně pozitivní) výsledky

ANTISEPSE zahrnuje postupy, které aktivně zasahují proti infekci. Mohu sem patřit postupy desinfekce a sterilizace, ale v podstatě i používání antiseptik, které jinak řadíme spíše mezi používání antimikrobiálních látek než mezi dekontaminační postupy.

### Přehled antimikrobiálních látek

- **Antibiotika** - proti bakteriím, produkty bakterií nebo hub
- **Antibakteriální chemoterapeutika** - proti bakteriím, syntetická
- **Antituberkulóza** - proti bacilům tuberkulózy (hodně se liší)
- **Antivirotika** - proti virům
- **Antimykotika** - proti houbám
- **Antiparazitární látky** - proti parazitům
- **Antiseptika** - k lokální léčbě různých infekcí
- LÁTKY (primárně) BAKTERICIDNÍ - při běžně používaných koncentracích mikroby zabíjejí. Používají se i u těžkých stavů
- LÁTKY (primárně) BAKTERIOSTATICKÉ - při běžně používaných koncentracích inhibují růst, zbylé mikroby pak postupně hynou

## Rozdělení antimikrobiálních látek

- PENICILINY působí na buněčnou stěnu bakterií, jsou baktericidní (bakterie zabíjejí), dobře se kombinují s aminoglykosidy, nesmějí se kombinovat s makrolidy, tetracyklíny, chloramfenikolem a linkosamidy (navzájem snižují svůj účinek). Nejsou téměř toxické, ale mohou vyvolávat alergie. Toto vše platí i pro cefalosporiny a nové penemy.
  - Klasické: **penicilin** - účinný například na angíny
  - Protistafylokokové: **oxacilin** - pouze na stafylokoky
  - Širokospektré - působí i na gramnegativní tyčinky. Nejstarší z nich je **ampicilin**. Podobný je také **amoxycilin** (AMOCLEN, DUOMOX).
  - Kombinace s inhibítorem betalaktamázy. Některé bakterie rozkládají penicilíny pomocí beta-laktamázy. Je proto dobré nabídnout bakterii látku, která je jako antibiotikum málo účinná, ale zato ji bakterie rozloží přednostně. Skutečné účinné antibiotikum pak "nechá na pokoji". Používá se např. kyselina klavulanová v kombinaci s amoxycilinem (AUGMENTIN, AMOKSIKLAV).
  - Protipseudomonádové např. **tikarcilin**
- CEFALOSPORINY jsou účinné proti G+ kokům (hlavně první generace) a G- tyčinkám (hlavně třetí generace)
  - I. generace: **cefalotin** (injekční), **cefalexin** (CEFACLEN - tabletový)
  - II. generace: nejznámější **cefuroxim axetil** (ZINNAT, ZINACEF)
  - III. generace: například **ceftriaxon** (ROCEPHIN, LENDACIN), **cefoperazon** (CEFOBID);
  - III. generace s inhibítorem betalaktamázy: **cefoperazon se sulbaktamem**, (působí obdobně jako kyselina klavulanová - SULPERAZON)
  - IV. generace: např. **cefepim** (MAXIPIME)
  - cefamyciny - příbuzné cefalosporinům: **cefexitin** (MEFOXIN)
- NOVÉ BETALAKTAMY mají velice široké spektrum a používají se jako rezervní, když už nic nepomáhá (zejména karbapenemy)
  - monobaktamy, např. **aztreonam**
  - karbapenemy, např. **imipenem** (TIENAM)
- AMINOGLYKOSIDY jsou baktericidní. Nevýhodou je, že jsou jedovaté pro sluch a ledviny. Některé se pro jedovatost užívají jen lokálně (**neomycin** - tvoří spolu s bacitracinem FRAMYKOIN). Patří sem např. **gentamicin**, a **amikacin**. Hodí se hlavně na G- mikroby.
- TETRACYKLINY jsou pouze bakteriostatické. (Totéž platí i o dalších třech skupinách.) Jsou jedovaté pro játra a vyvolávají nevolnost. Nesmějí se kombinovat s alkoholem a s mlékem (vápník), ale ani s preparáty Mg, Fe a Zn. Nepodávají se u dětí do osmi let (kvůli vývoji kostí a zubů), těhotných a kojících. Dnes se používají méně, ale na některé mikroby jsou pořád nejlepší. Používá se **tetracyklin**, či **doxycyklin**
- CHLORAMFENIKOL je jedovatý pro krvevorbou, ale má dobrý průnik do mozkomíšního moku.
- MAKROLIDY jsou účinné prakticky jen na G+ bakterie (azithromycin i na hemofily). Nevolnost při užívání I. generace se u II. generace snížila. Používají se mj. při alergii na peniciliny.
  - I. generace: **erytromycin**
  - II. generace: **clarithromycin** (KLACID), **roxithromycin** (RULID), **azithromycin** (SUMAMED) /stačí znát jeden z nich/
- LINKOSAMIDY jsou rezervní antibiotika. Používají se jen v nemocnici při infekcích kostí a měkkých tkání. Patří sem např. **linkomycin**
- CHINOLONY jsou vlastně chemoterapeutika, nikoli antibiotika. I. a II. generace se hodí jen pro močové infekce (v moči se koncentrují, ve tkáních málo). Od II. generace se nesmějí podávat dětem do 15 let (mají asi vliv na chrupavku).
  - I. generace - **kyselina oxolinová** (DESUROL)
  - II. generace - **norfloxacin** (NOLICIN, GYRABLOCK)
  - III. generace - **ciprofloxacin** (CIPROBAY, CIPRINOL), **ofloxacin** (TARIVID, OFLOXIN)

- OSTATNÍ ANTIBIOTIKA A CHEMOTERAPEUTIKA
  - *Sulfonamidy* mají omezené použití. Používá se hlavně **sulfametoxazol** kombinovaný s jiným chemoterapeutikem trimetoprimem jako **kotrimoxazol** (SEPTRIN, BISEPTOL). Při léčbě ve stravě zákaz konzumace kyselin (citron) - nebezpečí krystalizace v ledvinách.
  - **Nitrofurantoin** se používá pouze k léčbě močových infekcí. Barví moč na žluto (upozornit pacienta!)
  - **Rifampicin** se používá pouze v kombinaci. Dnes zůstává jako rezervní a k léčbě tuberkulózy
  - **Vankomycin** a **teikoplanin** jsou rezervní antibiotika na G+ mikroby. Jsou značně toxické (ucho, ledviny, krev)
  - *Polymyxiny* (**polymyxin B** a **colistin**) jsou značně jedovaté - ten první tak moc, že se používá pouze lokálně (v ORL). Druhý se používá zejména na rezistentní G- tyčinky.
- ANTITUBERKULOTIKA jsou např. **izoniazid** nebo **etambutol**. Vždy se používá kombinace tří nebo čtyř látek, dlouhodobá léčba
- ANTIMYKOTIKA
  - *Imidazolová a triazolová*: **flukonazol** (DIFLUCAN), **ketokonazol** (NIZORAL) k celkovému, popř. i lokálnímu podání; **kotrimazol** (CANESTEN) pouze k lokálnímu podání. Navzájem se značně liší v účinnosti na různé houby
  - *Polyenová*: **amfotericin B** - vysoce toxický, pro těžké mykózy - k celkovému podání; **nystatin** (FUNGICIDIN) - k lokálnímu podání
  - *Analoga pyrimidinů* (látky příbuzné některým cytostatikům **flucytosin** (ANCOTIL) - nutno vždy v kombinaci!!!, i u dětí.
- ANTIVIROTIKA
  - *proti herpesvirům*: např. **acyklovir** (ZOVIRAX, HERPESIN)
  - *proti chřipce*: např. **amantadin**
  - *proti HIV*: např. **zidovudin**, další jsou nyní ve vývoji - na vývoji nadějných preparátů se podílí mj. český vědec dr. Holý
- ANTIPARAZITÁRNÍ LÁTKY
  - *proti prvokům*: nitroimidazoly - např. **metronidazol** (AVRAZOR); **chinin** a **chlorochin** (na malárii) a spousta dalších
  - *proti plochým červům*: např. **niklosamid**
  - *proti oblým červům*: např. **pyrvinium**
- ANTISEPTIKA A LOKÁLNÍ ANTIBIOTIKA. Vedle již zmíněného bacitracinu s neomycinem (FRAMYKOIN) se používá mupirocin (BACTROBAN), různé formy SEPTONEXu, ale také spousta dalších látek, používaných jako desinficiencia: JODONAL B, JODISOL, PERSTERIL, **peroxid vodíku**, nebo **chlorhexidin**.

(Poznámka: Názvy látek jsou uváděny jako **generické**, tedy název účinné látky, a případně FIREMNÍ - název konkrétního preparátu; z firemních názvů jsou vybrány jen ty nejběžnější - například kotrimoxazol je dnes u nás registrován pod čtrnácti názvy!)

### Mechanismus účinku, vylučování, toxicita – přehled

Působí na:  buněčnou stěnu	Peniciliny	baktericidní	vylučování převážně močí (u jednotlivých se může lišit)	Toxicita: nepatrná, zato mohou vyvolávat alergie značná - ušní, močová, popř. nervová
	Cefalosporiny			
	Nové b-laktamy			
	Vankomycin			
	Aminoglykosidy	bakteriostatické	vylučování převážně žlučí	játra, trávení; !zuby! malá (játra, trávení)
	Tetracykliny			
	Makrolidy			

syntézu proteinů	Linkosamidy		vylučování převážně ledvinami	malá (trávicí obtíže)
	Chloramfenikol			!!krvětvorba, tráv., nerv.
nukleové kyseliny	Chinolony	baktericidní		malá, tráv., CNS. !věk!
cytop. membránu	Polymyxiny			velká: nervy, moč. syst.
metabolismus	Sulfonamidy	bakteriostatické		ledviny, GIT a jiné

## Pojem MIC

U antimikrobiálních látek platí totéž, co u jiných chemických látek (a podobně i v případě fyzikálních charakteristik): pokud zvyšujeme koncentraci, dosáhneme hodnoty MIC - minimální inhibiční koncentrace. Jedná se o koncentraci, při které se bakterie přestanou množit. Jinak řečeno, je to bakteriostatická koncentrace (resp. fungistatická, virustatická).

Pokud koncentraci zvyšujeme dále, dostaneme se na hodnotu MBC - minimální bakteriocidní koncentrace. Při této koncentraci jsou bakterie (či analogicky jiné mikroby) usmrceny.

U primárně baktericidních antibiotik je MIC a MBC prakticky totožná, tj. téměř se nestává, že by bakterie nerostly, ale přitom nebyly usmrceny. Nopak u primárně bakteriocidních antibiotik je MBC velmi vysoká, mnohem vyšší než MIC.

Při praktickém používání antibiotik je známo, že při určitém běžném dávkování se u pacienta vytvoří určitá koncentrace antibiotika. Jde o to, jestli tato koncentrace je alespoň inhibiční. Všechny metody zjišťování MIC v podstatě srovnávají koncentraci dosahovanou v krvi (breakpoint) a MIC. Pokud je koncentrace dosahovaná v krvi vyšší než MIC, je inhibiční a antibiotikum lze použít. Pokud je koncentrace dosahovaná v krvi nižší než MIC, říkáme, že antibiotikum je na danou látku rezistentní - dosahovaná koncentrace není inhibiční. Je-li rozdíl jen malý, dá se problém vyřešit zvýšeným dávkováním; je-li větší, je nutno použít jiné antibiotikum.

Koncentrace dosahovaná v krvi je ovšem určující jen pro některé infekce. U opouzdřených procesů (abscesů) nebo třeba meningitid je nutno počítat s tím, že do místa infekce pronikne méně antibiotika, než do krve. U močových infekcí nemá vůbec smysl brát v úvahu koncentraci antibiotika v krvi - místo toho se MIC porovnává s koncentrací antibiotika v moči.

## Zjišťování citlivosti na antimikrobiální látky

### Difúzní diskový test

Na Müller-Hintonův agar (nebo jiný agar) se štětičkou plošně naočkuje suspenze bakterie. Pak se nanáší tzv. antibiotické disky - papírky napuštěné antibiotikem. Pokud mikrob roste až k disku, je rezistentní (necitlivý). Pokud je kolem disku zóna citlivosti, v níž mikrob neroste, a je větší než předepsaná, je citlivý.

V principu jde o to, že antibiotikum difunduje (prostupuje) z disku agarem dál, přičemž jeho koncentrace klesá. Každé vzdálenosti od disku by bylo možno přiřadit určitou koncentraci. "Předepsaná zóna" je vlastně taková, kde koncentrace odpovídá danému breakpointu, tj. koncentraci antibiotika v krvi (viz výše).

*(Pro jednoduchost zde mluvíme jen o baktériích; u kvasinek se tento test dělá zřídka, u ostatních mikrobů vůbec.)*

### E-testy

Jsou to podobné testy, ale místo disku se použije proužek se stoupající koncentrací antibiotika od jednoho konce proužku ke druhému. Antibiotikum opět difunduje, ale zóna tu není

kruhová, ale vejčitá, a z velikosti se dá určit MIC (minimální inhibiční koncentrace - tedy nejnižší koncentrace, která zastavuje růst mikroba). Odečítání je jednoduché - na papírku je stupnice, a MIC se odečítá v místě, kde okraj zóny kříží papírek.

### **Mikrodiluční test**

Antibiotikum je v řadě důlků v plastové destičce v klesající koncentraci. Nejnižší koncentrace, která inhibuje růst, je MIC. Jedna destička se zpravidla použije pro jeden kmen - testování např. 12 antibiotik, každé v 8 různých koncentracích. Pokud například v koncentracích 0,25 - 0,5 - 1 - 2 je přítomen zákal a v koncentracích 4 - 8 - 16 - 32 (vše v mg/l) zákal není, říkáme, že koncentrace 4 mg/l a vyšší jsou inhibiční - tedy koncentrace 4 mg/l je minimální inhibiční koncentrace.

Pokud důlky bez zákalu (tj. s inhibicí) vyučujeme do půdy bez antibiotika, můžeme pozorovat, jestli bakterie byly pouze inhibovány, nebo usmrceny. Tím zjistíme hodnotu MBC. Tento postup se ale v praxi používá výjimečně.

Mikrodiluční test se používá místo difusního diskového testu zejména u pacientů těžce nemocných, v ohrožení života.

### **Zjišťování faktorů rezistence**

Ne vždycky stačí výše uvedené zjišťování citlivosti či rezistence na antibiotika. Někdy je lépe speciálními metodami zjišťovat přítomnost konkrétních faktorů rezistence, např. betalaktamáz. Konkrétní metody jsou uvedeny u konkrétních bakterií. Může se jednat o diagnostické průžky nebo testy na jiném principu.

## **Imunologie**

Obranyschopnost organismu zajišťují jednak anatomické bariéry (kůže, sliznice), jednak fyziologické mechanismy, a jednak vlastní imunitní systém.

Imunitní systém spolu s nervovým a hormonálním udržuje rovnovážný stav organismu - homeostázu. Rozlišuje vlastní od cizího a cizí se snaží eliminovat.

Imunita se dá rozdělit na nespecifickou (vrozenou, zaměřenou všeobecně) a specifickou (získanou během života, zaměřenou proti konkrétnímu mikrobu, resp. jinému nežádoucímu vlivu). Obě spolu souvisejí: tam, kde se uplatňuje specifická imunita, dojde vždycky zároveň k vybuzení imunity nespecifické. Jak specifická, tak i nespecifická imunita se dá rozdělit na buněčnou (s cizorodým materiálem se potýká přímo buňka) a humorální (buňka tvoří chemické látky, a právě tyto látky ničí cizorodé agens.)

### **Anatomické bariéry a fyziologické mechanismy**

Kůže a sliznice tvoří přirozené anatomické bariéry. Kůže je neprostupná pro naprostou většinu mikrobu. Sliznice jsou daleko prostupnější. Další bariéry jsou uvnitř organismu, zejména hematoencefalická bariéra.

Mezi fyziologické mechanismy se dá počítat všechno, co škodlivé mikroby vypuzuje z těla. Například pohyb epitelů v dýchacích cestách, močení, za mimořádných situací např. průjem, zvracení apod.

### **Nespecifická imunita**

#### **Buněčná složka**

Tuto složku tvoří různé typy bílých krvinek - vlastně všechny kromě lymfocytů, které patří k imunitě specifické. Navíc sem patří některé tkáňové buňky, které jsou bílým krvinkám podobné.

Všechny se podílejí na pohlcování cizorodých materiálů, hlavně mikrobů. I když patří do nespecifické imunity, spolupracují i s protilátkami a lymfocyty ze specifické i.

- neutrofil - je jich nejvíc, krátká životnost, nedělí se, musí "uzrát" nové
- monocyty (v periferní krvi) / makrofágy - (ve tkáních) - dlouhá životnost, mohou se dělit
- eozinofily - zmnoženy u některých typů alergie a u infekcí červy
- bazofily (v krvi) / mastocyty (ve tkáních) - po aktivaci (kontaktu s cizorodým materiálem) uvolňují histamin a jiné látky
- NK-buňky (z angl. **natural killer**) přímo, bez imunizace zabíjejí cizorodé nebo i vlastní, ale "zvrhlé" buňky (nádorové, nakažené)

### **Humorální - látková složka**

- histamin a další látky uvolňované bazofily - rozvoj takzvaných atopických příznaků - rýma, astma, kopřivka
- komplement = 7 - 10 % sérových globulinů, hlavně z  $\beta$ -frakce; může být aktivován nespecificky (pomalu) nebo pomocí protilátek (rychle). Funkce:
  - chemotaxe - "přilákání" bakterií
  - opsonizace - "ochucení" bakterií, aby "chutnaly" leukocytům
  - podíl na ničení bakterií a jiných cizorodých faktorů
- interleukiny - produkovány různými leukocyty po kontaktu s cizorodým materiálem, mnoho typů, funkce:
  - horečka (protože zvýšená teplota ničí některé mikroby, zejména viry)
  - mobilizace některých hormonů a naopak utlumení těch, které nejsou při infekci potřeba
  - spousta dalších vlivů na chování makroorganismu
- lymfokiny - produkovány některými lymfocyty, funkce:
  - "přilákání" a aktivace buněk, zodpovědných za zánět (neutrofil, makrofágy)
  - podpora množení aktivovaných lymfocytů
- interferon - účinný proti virům a některým nádorům

## **Specifická imunita**

### **Hlavní složky imunitního systému**

- lymfocyty - vznik v kostní dřeni, vyskytují se hlavně v mízních uzlinách a slezině, při kontaktu s cizorodým materiálem se začínou mohutně množit
  - T-lymfocyty - zrají částečně v brzlíku - jsou zodpovědné za buněčnou imunitu
  - B-lymfocyty (v krvi) / plasmatické bb. (v lymfoidních tkáních) - produkuje protilátky specificky proti "svým" antigenům (viz dále)

### **Pojem ANTIGEN**

- je to cizorodá struktura, která vyvolává tvorbu protilátek (viz dále)
- je to vždy makromolekula (bílkovina, polysacharid, nukleové kyseliny); malé molekuly jsou antigenní jen po navázání na makromolekulu
- příklady antigenů:
  - mikrobiální antigeny (různé povrchové struktury mikrobů - bílkoviny, polysacharidy apod.)
  - alergeny - antigeny ze zevního prostředí, které vyvolávají přecitlivělost
  - autoantigeny - vlastní antigeny, které se změnila a imunitní systém je přestal tolerovat
  - nádorové markery - změněné znaky na nádorových buňkách
  - histokompatibilní (HLA) - antigenní znaky na vlastních buňkách, význam při transplantacích, určení otcovství. Organismus jimi rozeznává "svoje" od "cizího"

- podobně *antigeny na erythrocytech* rozhodují o krevních skupinách

### **Humorální - látková složka**

- protilátky - gama globuliny, v séru i tkáních, produkovány B-lymfocyty. Protilátka se vždy vytváří jako odezva makroorganismu na podráždění určitým mikroblem.
  - účinky: 1. přímé zneškodnění - možné jen u virů a bakteriálních jedů, ne však u celých bakterií, 2. opsonizace ("ochucení" bakterií), 3. posílení funkce komplementu
  - třídy:

IgG - největší část protilátek, začnou se tvořit později, ale po prodělané infekci zůstává celoživotně určitá hladina IgG proti danému mikrobu; ↑ hladina ukazuje na chron. infekci; procházejí placentou

IgM - velká molekula, placentou neprocházejí; tvoří se jako první při infekci i očkování; ↑ hladina ukazuje na čerstvou infekci, nepřetrvává dlouho

IgA - hlavně na sliznicích (slizniční imunita)

IgD - stopová množství, funkce málo známá

IgE - souvisí s přecitlivělostí (alergií)

- při narození má novorozenec nejprve IgG od matky, pak si sám začne tvořit své vlastní IgG a pak i IgM

### **Lymfoidní tkáň**

- lymfatické uzliny, slezina - obsahují hlavně T-lymfocyty a plasmatické bb.
- roztrošené lymfoidní tkáň všude ve sliznicích, někde méně, někde (červovitý výběžek slepého střeva) více
- pro imunitu nepostradatelná játra

### **Protinádorová imunita**

- buňkami zprostředkovaná imunita, NK-buňky, interferon

### **Imunodeficity (některé složky imunitního systému chybějí nebo jsou defektní)**

- klinicky významné poruchy imunity vrozené nebo získané

*Deficity nespecifické buněčné imunity (tj. hlavně různých bílých krvinek kromě lymfocytů)*

- sklon ke kožním infekcím a abscesům
- léčba: transfúze leukocytárních koncentrátů

*Deficity nespecifické humorální imunity (hlavně komplementu)*

- sklon k bakteriálním infekcím
- léčba: mražená plasma (obsahuje komplement)

*Deficity specifické buněčné imunity (T-lymfocytů)*

- sklon k infekcím virovým, parazitárním, plísňovým, tuberkulóze
- do této skupiny patří i AIDS

*Deficity specifické humorální (= protilátkové) imunity*

- chybí některé imunoglobuliny, sklon ke všem infekcím, hlavně bakteriálním
- léčba: pacientovi se dodají čištěné imunoglobuliny, nejlépe lidské

### **Imunologická přecitlivělost**

- chorobný stav nadměrné imunity

*Alergie časného typu - atopická onemocnění*

- po kontaktu s alergenem (pyl, prach, roztoči, chlad, plísně, potraviny) se uvolní IgE, histamin a látky rozšiřující cévy
- projevy mohou být různé, i podle typu kontaktu
  - alergická rýma
  - atopické astma ("záducha" v průduškách)
  - atopická dermatitida (kopřivka)
  - průjmý, zvracení, bolesti břicha

- **anafylaktický šok** - nejzávažnější, při proniknutí alergenu do krev. oběhu např. injekce cizorodého séra, antibiotika, včelí bodnutí; místní reakce: otok, celková reakce: pokles TK, dušnost při otoku dých. cest; léčba: adrenalin, kortikoidy, antihistaminika, (Claritin, Zaditen, Dithiaden), vyhýbat se alergenu

#### *Přecitlivělost pozdního typu*

- souvisí s buněčnou imunitou
- po setkání se známým antigenem se projeví se zpožděním (24 - 48 h)
- chorobné projevy:
  - neinfekční záněty kůže - např. po některých kovech a chemikáliích
  - odvrhnutí štěpu (někdy až po letech)
- využití: tuberkulínová zkouška

#### *Přecitlivělost cytotoxická a imunokomplexová*

- buňky poškozeny specifickými protilátkami a jejich komplexy s antigenem (imunokomplexy) - např.: transfúzní reakce, sérová nemoc, hemolytické anémie

#### *Přecitlivělost stimulační*

- přecitlivělost vyvolává nadprodukcí některých hormonů (např. štítné žlázy)

### **Nemoci z autoimunity**

- porušena tolerance vlastních antigenů
- např.: různé krvácivé a revmatické nemoci

### **Imunoterapie (léčení imunopreparáty)**

- profylaxe, prevence i léčení chorob

#### *Imunizace - BUDE PROBRÁNA SAMOSTATNĚ*

*Imunosuprese - potlačení imunitních reakcí - u nadměrné nebo špatné imunity*

*Imunostimulace - povzbuzení nedostatečné imunity*

*Desenzibilizace - podávají se mikrodávky antigenu, aby si na ně organismus "zvykl" a nereagoval přehnaně; dávky se postupně zvyšují*

### **Vyšetření v imunologické laboratoři (jen základní přehled)**

- počty, druhové rozdělení a funkčnost různých bílých krvinek
- hladiny různých složek humorální imunity (specifické i nespecifické)
- kožní testy na alergeny

### **Umělá imunizace**

Umělou imunizaci dělíme na dvě skupiny.

**Aktivní imunizace = očkování;** do organismu je vnesena očkovací látka, obsahující antigen. Tělo je antigenem "vyprovokováno" a vytváří protilátky.

**Pasivní imunizace:** do organismu jsou vneseny už hotové protilátky nebo sérum, které je obsahuje. Jenže protilátky od cizího člověka (natož od zvířete) nikdy nejsou stejné, a v těle fungují méně účinně než vlastní.

Představte si hladového muže na břehu řeky. Jak mu nejlépe pomoci? Když mu nachytáte ryby, nasytíte ho hned, ale až ryby sní, bude mít zase hlad. Když ho naučíte ryby chytat, bude se umět nasytit celý zbytek života. Zato to bude chvíli trvat. První postup připomíná pasivní imunizaci, druhý aktivní; oba mají výhody a nevýhody; někdy je potřeba obě metody zkombinovat (podat protilátku i antigen).

### **AKTIVNÍ IMUNIZACE (očkování)**

U aktivní imunizace je důležité, aby očkovací látka obsahovala antigen, schopný vyprovokovat tvorbu protilátek, a přitom aby podání očkovací látky nevyvolávalo příslušnou



nemoc. Nejlepší by bylo mít zcela čistý antigen, očištěný od jiných součástí mikroba, které mohou být případně jedovaté. To ale ne vždycky jde.

**OČKOVACÍ LÁTKY PROTI BAKTERIÁLNÍM NÁKAZÁM:**

a) **Očkování živými bakteriemi** se provádí u tuberkulózy. Očkování se provádí ihned po narození a nepřeočkovává se, jen se kontroluje stav imunity (tzv. tuberkulínovým testem).

b) **Bakteriny** - celé usmrcené bakterie. Např. černý kašel.

c) **Anatoxiny neboli toxoidy** se používají tam, kde bakterie škodí hlavně prostřednictvím toxinů (jedů). Anatoxin je vlastně jed zbavený jedovatosti (toxicity), který si zachovává antigenní působení. Např. tetanus a záškrť.

d) **Čištěné povrchové antigeny** (např. polysacharidové), např. Haemophilus influenzae b, Neisseria meningitidis aj.

**OČKOVACÍ LÁTKY PROTI VIROVÝM NÁKAZÁM:**

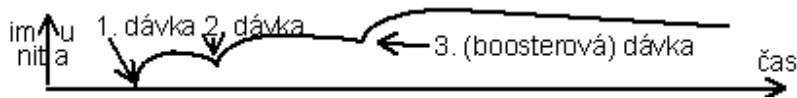
a) **Živé vakcíny** - pěstují se oslabené kmeny virů na buněčných kulturách. U oslabených osob mohou vyvolat různé reakce. Spalničky, zarděnky, příušnice; na lžičce podávaná (IgA!!) - dětská obrna.

b) **Usmrcený virus**. aj. Virus je vypěstován a poté usmrcen, nejčastěji formaldehydem. Klíšfová encefalitida, žloutenka A

c) **Chemovakcíny**. Antigen byl získán chemickou cestou (rekombinací DNA). Např. látka Engerix proti hepatitidě B.

Kromě antigenu obsahují očkovací látky také **další složky**. Mnohé očkovací látky jsou **naadsorbovány na hydroxid hlinitý**. Většina očkovacích látek je **chráněna proti znehodnocení** použitím **konzervačního činidla** (obvykle tiomersalu).

Obvykle není dostačující jedna **dávka** očkovací látky. V řadě případů je zapotřebí použít dvě nebo tři dávky v poměrně rychlém sledu a později pak udržovací (**boosterovou**) dávku. V některých případech musí být dávka **opakována v pravidelných několikaletých intervalech** po celý život (např. u tetanu 10 let).



Některá očkování jsou **povinná** po všechny, obvykle děti v předškolním věku. Existuje norma, podle které děti v určitém věku podstupují určitá očkování - tzv. očkovací kalendář. U nás v současné době:

Bakterie	Tetravakcína (4 látky)	Záškrť + tetanus + dávnivý kašel + (nově) Haemophilus influenzae b
	Jednotlivá vakcína	Tuberkulóza (hned po narození)
Viry	Trivakcína (3 látky)	Spalničky + zarděnky + příušnice
	Jednotlivá vakcína	(nově) Žloutenka (hepatitis) typu B
	Jednotlivá vakcína	Dětská obrna (na lžičce)

Vedle všeobecně povinných očkování existují ještě další (povinná nebo doporučená): **pro určité profese** (zdravotníci - žloutenka B v dospělosti), pro osoby cestující **do zahraničí** (tyfus, cholera, ale i třeba žloutenka A). Dále se používá očkování **k profylaxi** vztekliny (k riziku už došlo, není to tedy prevence).

Některá očkování si zájemci musí **zaplatit**, např. vakcína proti viru klíšfové encefalitidy (nebo jim je zaplatí zaměstnavatel, třeba lesní závod). Poslední skupinou jsou **speciální očkovací látky** k cílenému předcházení nebo i léčbě některých závažných onemocnění. Riziko nemocničních infekcí Pseudomonas aeruginosa se snaží snížit očkovací látka Psaeva. U

chronických stafylokokových infekcí lze použít preparát Stafana. Používají se i tzv. stockvakcíny, vyráběné přímo v mikrobiologických laboratořích a zahrnující antigeny z kmenů, které právě kolují mezi lidmi. Pokud jsou mikroby získány pomnožením kmenů získaných přímo od pacienta, hovoří se o tzv. autovakcínách (posiluje se reakce na pacientovy vlastní kmeny).

## PASIVNÍ IMUNIZACE

se používá k léčbě a k profylaxi (pojem profylaxe viz výše). K pasivní imunizaci se používá sér (antisér), a to jednak **homologních** (tj. lidských), jednak **heterologních** (zvířecích). Séra (zvláště heterologní) musí být pečlivě čištěna, a i tak dochází záhy k jejich vypuzení, takže jejich účinek netrvá dlouho. Homologní séra mohou být specifická nebo nespecifická. **Nespecifická** séra (NORGA (= Normální Gamaglobulin) k nitrosvalové a IVEGA či NIGA k nitrožilní aplikaci) jsou získána z krve mnoha dárců, takže by měla obsahovat protilátky proti všem běžným chorobám. Obsahují ovšem také řadu jiných bílkovin, které mohou imunitní systém spíše narušit. Proto se s jejich používáním čím dál více váhá. Ze **specifických** protilátek (tj. proti konkrétní chorobě) se užívá TEGA (proti tetanu), HEPAGA - proti hepatitidě B, globuliny proti botulismu (BOSEA), plynatě sněti (GASEA) a stafylokokovým infekcím (STASEA).

# Mikrobiologická diagnostika

## Základní pojmy mikrobiologické diagnostiky

Mikrobiologická diagnostika směřuje k odhalení původce nemoci. Skutečného původce je přitom často potřeba odlišit od běžné flóry - tedy mikrobů (hlavně bakterií), které se v některých tělních dutinách vyskytují normálně, a také od kontaminace, tedy od mikrobů, které se do vzorku připlety omylem cestou.

V některých případech (u bakterií skoro vždycky) existuje vedle určení původce další úkol - určení "in vitro" citlivosti na antibiotika. "In vitro" citlivost (určená v laboratoři) ovšem o skutečné "in vivo" citlivosti u pacienta vypovídá jen částečně. Je to dáno mimo jiné tím, že v laboratoři se mikroby chovají poněkud jinak než ve tkáních.

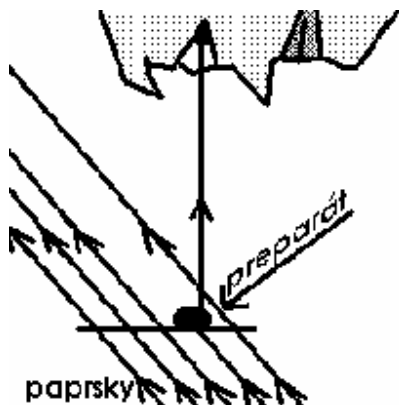
Metody, kterými určujeme mikroby, si můžeme rozdělit na:

**METODY PŘÍMÉ**, pomocí kterých **hledáme mikroba jako takového, jeho součást nebo jeho produkt** ve vzorku od pacienta; vzorkem v takovém případě bývá např. moč, stolice, hnis, mozkomíšní mok, výtěry z nejrůznějších tělních povrchů a otvorů. Pokud hledáme mikroba bezprostředně ve vzorku, používá se zpravidla pojem přímý průkaz; tam, kde jsme již konkrétního mikroba vypěstovali na kultivační půdě a dále si s nimi "hrajeme", hovoří se o identifikaci mikroba.

**METODY NEPŘÍMÉ**, kterými **hledáme protilátky**. Rozdíl je v tom, že protilátka není součástí ani produktem mikroba - je produktem makroorganismu, i když by bez podráždění daným mikroblem nevznikla. Nevýhodou nepřímých metod je, že nejsou důkazem toho, že je mikrob v těle právě přítomen - svědčí jen o tom, že se s ním tělo někdy setkalo. - Nepřímé metody probereme později.

## Přehled přímých metod

Název metody	K přímému průkazu	K identifikaci
Mikroskopie (optická, elektronová)	ano	ano
Kultivace (pěstování na půdách)	ano	ano
Biochemická identifikace	ne	ano
Pokus na zvířeti	ano	výjimečně



Průkaz antigenu/antigenní analýza	ano	ano
Průkaz nukleové kyseliny	ano	výjimečně

## Mikroskopie

Viry až na výjimky vidíme jen v elektronovém mikroskopu. Naopak houby a paraziti jsou tak velcí, že je vidíme v optickém mikroskopu i bez barvení. Baktérie jsou "něco mezi": vidíme je sice v optickém mikroskopu, ale musíme si je obarvit. Výjimkou jsou pohyblivé baktérie, ty jsou viditelné i bez barvení - někdy dokonce lépe (barvení totiž předpokládá usmrcení bakterie).

### Důležité součásti mikroskopu

OKULÁR je část, do které se díváme. Je v něm umístěna čočka, většinou zvětšující desetkrát.

OBJEKTIV je část, která je nejbližší preparátu. Jsou různé objektivy, často se používá "revolverový systém", kdy se do mikroskopu dají otáčením nasouvat různé objektivy. Většinou je na otáčivé hlavě objektiv zvětšující 4×, dále 10×, 40× a nakonec tzv. imerzní objektiv, který zvětšuje 100×. Imerzní objektiv bývá označen dvěma čarami (nebo jednou tlustou). Pokud používáme imerzní objektiv, musíme na preparát (nebo na krycí sklíčko) kápnout imerzní olej. Mezi objektivem a preparátem pak není vzduch, ale jen olej. To zlepšuje pozorovatelnost.

ZDROJ SVĚTLA bývá umístěn pod preparátem. Světlo z něj ještě prochází několika čočkami.

MIKROŠROUB A MAKROŠROUB se používají k ovládnutí mikroskopu. Než se začneme dívat do okuláru, je potřeba makrošroubem spustit objektiv až dolů (u imerze až k preparátu) a kontrolovat zrakem, že se nerozbilo podložní, popř. krycí sklíčko. Pak se teprve začneme dívat do okuláru a mikrošroubem preparát doostříme.

POSUN SKLÍČKA zajišťují další dva šrouby - jeden posouvá preparát do stran, druhý dopředu a dozadu. Většinou je potřeba prohlédnout několik desítek polí.

### Nativní preparát

Nejjednodušší druh mikroskopie: mikroby se pozorují neobarvené, jen rozmíchané v kapce fyziologického roztoku a popřípadě přikryté krycím sklíčkem. Nepoužívá se imerze. Nativní preparát se hodí

- na mikroby (baktérie, prvoky), které se pohybují
- na velké mikroby - především eukaryota

### Mikroskopie v zástině

Je to zvláštní druh nativního preparátu. Zatímco při normální mikroskopii svítí světlo skrz preparát do oka pozorovatele (výsledkem je tmavý preparát na světlém pozadí), u mikroskopie v zástině svítí světlo šikmo z boku a do oka se dostanou jen ty, které se zlomí na preparátu. Výsledkem je světlý preparát na tmavém pozadí (proto zástin - anglicky *dark field microscopy*). Zdroj světla ovšem musí být intenzivnější než u normální mikroskopie. Používá se především u spirochet.

### Barvené preparáty

Preparáty, které mají být nějak obarvené, musí být nejprve vysušeny a poté zfixovány - obvykle protažením plamenem. Poté proběhne vlastní barvení. Preparát se vysuší (např. filtračním papírem) a pozoruje se tzv. imerzním objektivem bez krycího sklíčka; mezi objektiv a preparát se kápne kapka imerzního oleje.

### Jednoduché barvení

Používá se například metylénová modř. Fixovaný preparát se jí obarví, opláchne, vysuší a pozoruje (imerzí). Jednoduché barvení je skutečně jednoduché. Spíše než mikrobiologická laboratoř ho využije praktický lékař, který to má do laboratoře daleko a chce mít předběžnou diagnózu. I jednoduché barvení nám umožní vidět velikost, tvaru uspořádání mikrobů.

### Gramovo barvení

Je to nejdůležitější barvení v mikrobiologii. Rozliší bakterie podle typu buňčné stěny. Má čtyři kroky, po každém z nich se preparát oplachuje vodovodní vodou. Po posledním oplachu se vysuší.

Krok	Chemikálie	Co udělají G+	Co udělají G-
1.	Genciánová violeť (30 sekund)	Obarví se na modro (u G+ silná vazba, u G- slabší barva)	
2.	Lugolův roztok (30 s)	Vazba barvy zesílí	Vazba zesílí méně
3.	Alkohol (20 s)	Neodbarví se	Odbarví se
4.	Safranin (60 s)	modrá => fialová	bezb. => červená

Výsledkem tedy je, že grampozitivní (G+) bakterie jsou modrofialové, G- bakterie jsou červené.

Kromě grampozitivních a gramnegativních jsou ještě bakterie gramem se nebarvící - mají jiný typ buněčné stěny nebo buněčnou stěnu nemají. Takové se neobarví.

### Jiná barvení

Různá speciální barvení se používají např. na tuberkulózu, na plísně, některé parazity apod. Budou postupně probírána v rámci speciální mikrobiologie.

### Fluorescenční mikroskopie

FLUORESCENCE = jev, kdy látka pohltí světlo určité vlnové délky a místo něj vyzáří světlo o vlnové délce delší. Fluorescenční barvivo = fluorochrom. Běžnými fluorochromy jsou například fluorescein, rodamin nebo auramin. Výsledek barvení fluorescenčními barvivy pozorujeme ve fluorescenčním mikroskopu. Fl. m. je v podstatě obyčejný mikroskop, ale obsahuje výbojku. Ta pohlcuje určité světlo, vyřazováno je jiné světlo. Je-li preparát obarven příslušným fluorochromem, září - podle druhu použitého fluorescenčního barviva zeleně, žlutě nebo červeně. Výsledkem je, že obarvený objekt září příslušnou barvou na tmavém pozadí. Používá se hlavně u tuberkulózy a u mykóz. Kromě toho se princip fluorescence může kombinovat s nepřímým průkazem

### Interpretace výsledků mikroskopie

Použijeme-li mikroskopii jako přímý důkaz, nevidíme jenom mikroby samotné, ale také různé jiné věci, například epitelie a leukocyty makroorganismu. Jejich přítomnost a vzájemný poměr má velký význam při hodnocení nálezu. Například velké množství neutrofilů svědčí o bakteriální hnisavý zánět.

Samozřejmě, je-li mikroskopie použita k identifikaci, vidíme už jednom příslušného mikroba.

Množství jednotlivých elementů (baktérií, leukocytů apod.) se hodnotí zpravidla semikvantitativně na jeden až tři (čtyři) křížky.

## Kultivace

Kultivace je pěstování mikrobů. Mikroskopie je sice nejklasičtější mikrobiologickou metodou, avšak kultivace je zdaleka nejdůležitější. Mimo jiné umožňuje využívat kromě přímého průkazu ve vzorku také kultivaci izolovaných mikrobů (viz výše).

Ke kultivaci se používají kultivační půdy nebo také média (anglicky *cultivation medium*).

### Půdy tekuté

Jsou nejjednodušší. Používají se zpravidla jako půdy pomnožovací. Umožňují nám pozorovat, jestli mikroby rostou (v tom případě se tekutá půda zakalí) nebo nerostou; nic víc však nezjistíme. Nejdůležitější je:

- Peptonová voda - obsahuje bílkovinný hydrolyzát (to jest: produkt rozkladu bílkoviny na aminokyseliny a polypeptidy). Sama o sobě se používá zřídka, je však mezistupněm k další:
- Bujón je peptonová voda s vývarem. Je to základní pomnožovací půda, běžně používaná v laboratoři hlavně tam, kde předpokládáme malé množství mikrobů, jež chceme namnožit.
- VL-bujón je bujón s přídavkem kvasnic (francouzsky *viande-levure* = maso-kvasnice). Hodí se pro anaeroby. Aby se mikroby při kultivaci nedostaly do styku se vzdušným kyslíkem, přelévá se VL-bujón při kultivaci vrstvou parafinového oleje.
- Selenitový bujón je půda selektivní (někdy se také říká selektivně pomnožovací). To znamená, že na ní roste jen něco - v našem případě jen salmonely (a pár dalších rodů).

### Půdy agarové - "pevné"

Jsou to půdy, jejichž základem je živný agar - to je bujón, do kterého je přidán výtah agarové řasy. Tím se stane, že z tekutiny se stane hmota připomínající pudink nebo želatinu. Fyzikálně vzato je to ovšem pořád tekutina: jakákoli chemická látka, kterou umístíme na povrch agarové půdy, začne touto půdou poměrně rychle pronikat (difundovat).

Na agarových půdách je báječná jedna věc: bakterie (a také kvasinky) na nich tvoří kopečky, kterým říkáme **kolonie**. Každý druh bakterie tvoří na konkrétní půdě specifické kolonie charakteristické velikosti, barvy, tvaru apod., což velmi usnadňuje diagnostiku.

Jedna kolonie zpravidla vyrůstá z jedné bakterie (nanejvýš z jedné dvojice, jednoho řetězku, jednoho shluku - používá se tu anglický termín CFU = colony forming unit = jednotka tvořící kolonii). Z toho také logicky vyplývá, že pokud na agarovou půdu naočkujeme směs dvou bakterií, a pokud tato směs není příliš hustá, vytvoří každý z těchto druhů své vlastní charakteristické kolonie. Ty pak můžeme přeočkovat (= odebrat a nechat znovu kultivovat) a různými metodami identifikovat.

Živný agar se v praxi nepoužívá. Když už se totiž v laboratoři vaří agarová půda, vždycky se do ní něco přidává, co usnadňuje rozpoznání jednotlivých druhů.

### Deset vlastností, popisovaných u kolonií

(Ve skutečnosti většinou málokdy popíšeme všech deset. Například je-li kolonie mrňavá, není viditelný tvar. Je-li průhledná, bývá i bezbarvá, atd.)

1. Velikost - dá se vyjádřit srovnáním (XY má větší kolonie než AB), porovnáním či nejlépe v milimetrech
2. Tvar - myslí se tvar "shora": okrouhlý, eliptický, nepravidelný
3. Profil = "tvar z boku" - plochý, vystouplý, miskovitý...
4. Barva (je-li nějaká popsitelná)
5. Průhlednost (transparence)
6. Povrch (hladký, drsný)
7. Okraje (rovné, výběžkaté)
8. Zápach či vůně (je-li nějak specifický)
9. Okolí kolonie - některé bakterie ovlivňují okolní agarovou půdu (například mění její barvu)

10. Konzistence - tady nám nestačí zrak, ale musíme do kolonie šfouchnout například kličkou. Některé kolonie jsou suché - rozpadnou se, případně je celé posuneme. Jiné jsou mazlavé, máslovité, hlenovité - roztáhneme je někdy až do "nitky".

### **Nejdůležitější typy půd a jednotlivé půdy**

- **Diagnostické půdy** jsou takové, na kterých "roste kdeco, ale každé jinak". Jinak řečeno - určitá vlastnost bakterie se projeví na vzhledu kolonie. Do této skupiny patří i půda, která je mezi klinickomikrobiologickými půdami úplně nejdůležitější:
  - Krevní agar je živný agar s přidavkem ovčích červených krvinek. Využívá se toho, že patogenní druhy bakterií většinou rozkládají červené krvinky (beta-hemolýza) nebo aspoň mění červený hemoglobin na zelený biliverdin (alfa-hemolýza). Méně patogenní druhy krvinek nemění (žádná hemolýza, také "gama-hemolýza").
  - VL-agar je pozměněný krevní agar pro anaerobní bakterie, jako je VL-bujon pozměněný bujon. Bohužel, u agarové půdy již není možné přelítí parafinem, a tak se musí používat složitějších způsobů kultivace (viz Anaerobní kultivace)
- **Selektivní půdy** jsou takové, na kterých "roste jenom něco". Mohou být i tekuté (⇒ selenitový bujón). Z pevných půd např.:
  - Krevní agar s 10 % NaCl - je selektivní pro stafylokoky. Ostatní klinicky významné bakterie tak vysokou koncentraci NaCl nesnášejí. Přestože je základem krevní agar, nedá se půda použít ke sledování hemolýzy, neboť půda sama je poněkud hemolyzována tím, že je silně hypertonická. - Pro speciální účely se používají i jiné koncentrace NaCl než 10 %.
- **Selektivně diagnostické půdy** v sobě spojují vlastnosti obou předchozích. Jinak řečeno, jedny bakterie na nich nerostou, druhé bakterie rostou v určitých koloniích a jiné bakterie zase v koloniích jiného vzhledu.
  - Endova půda má svoji *selektivní vlastnost*. Ta spočívá v tom, že na ní rostou pouze gramnegativní (G-) bakterie. Má ale také *diagnostickou vlastnost*. Bakterie, které štěpí laktózu, na ní mají tmavočervené kolonie a tmavočervená je i půda v okolí kolonií. Laktózu neštěpící bakterie tvoří kolonie bledé. Příčinou je indikátor - Schiffovo činidlo, které reaguje na přítomnost aldehydů jakožto produktů štěpení laktózy (která je samozřejmě v půdě také obsažena).
  - Půdy XLD a MAL se používají k diagnostice salmonel. Protože jsou selektivní, rostou na nich kromě některých enterobakterií. I ty se dalí rozlišit - zejména salmonely, které rostou v bezbarvých koloniích s černým středem.
- **Obohacené půdy** jsou bohaté na živiny. Jsou určeny k pěstování náročných bakterií, které hned tak na něčem nevyrostou - například hemofily nebo původce kapavky.
  - Čokoládový agar je vlastně krevní agar zahřátý asi na 80 °C. Přestože se do něj oproti krevnímu agaru nic nepřidává, je obohacený tím, že různé látky z krvinek v něm volně plavou a jsou tedy pro bakterie mnohem lépe dostupné.
  - Levinthalův agar je přefiltrovaný čokoládový agar. Je téměř bezbarvý, přesto je funkčně hodně podobný předchozímu.
- **Speciální půdy** mají své zvláštní určení.
  - Müller-Hintonův agar je určen k testování citlivosti bakterií in vitro na antibiotika (jak se to dělá se dozvíte později).

### **Postup při kultivaci na pevné půdy ("očkování")**

1. Na povrch půdy naneseme část vzorku nebo několik kolonií z předchozí kultivace.
2. Bakteriologickou kličkou toto místo "roztaháme" po celé misce. Pokud předpokládáme, že je ve vzorku hodně mikrobů, snažíme se je zředit tak, že misku rozdělíme na několik úseků a na každý použijeme nově vyžíhanou (ale už studenou!) bakteriologickou kličku. Účelem je získat izolované kolonie. - Kličkou vždy "jedeme" po povrchu, nesmíme zarývat do agaru! Na misce teď není nic vidět - jen při bližším ohledání vidíme čáry.

3. Nyní misku umístíme do termostatu, většinou při 37 °C. Většinou kultivujeme 16 - 28 hodin (tedy do druhého dne), někdy ale déle (dva, tři i více dní). Po vyjmutí vidíme na misce kolonie

### **Anaerobní kultivace**

Pro kultivaci striktně aerobních (= pouze v kyslíkovém prostředí rostoucích) a fakultativně anaerobních (= na kyslíku nezávislých) bakterií není potřeba vytvářet zvláštní podmínky. Zato striktně anaerobním bakteriím musíme vytvořit speciální bezkyslíkové podmínky, chceme-li je pěstovat na pevných půdách.

ANAEROSTAT je nádoba, která má těsně přiléhavé víko. Před použitím si nachystáme sáček se speciální směsí chemikálií, a do anaerostatu vložíme (pokud už tam není) platínový katalyzátor. Když se do anaerostatu umístí naočkovaná miska, sáček se směsí se otevře, u některých typů se ještě zalije vodou. Tím začne běžet reakce, která během několika desítek minut spotřebuje kyslík a nahradí ho směsí vodíku a oxidu uhličitého.

ANAEROBNÍ BOX je modernější způsob kultivace. Je to velká prosklená bedna, do které je anaerobní směs vhnána z bomby. Můžeme v ní pracovat pomocí dvou otvorů v přední stěně, na kterých jsou připevněny gumové rukávy. Pracovník tedy prostrčí ruce, aniž by anaerobní směs unikala ven. To, co přece unikne, se zase doplní z bomby. I tak ovšem anaerostat i anaerobní box neumožňují růst těch anaerobů, které jsou na kyslík nejháklivější.

### **Biochemická identifikace**

Biochemická identifikace je založena na skutečnosti, že každý druh bakterie produkuje jinou sestavu enzymů. Tyto enzymy bakteriím slouží ke štěpení živin, případně též k syntéze stavebních součástí bakterie. A tak třeba máme bakterii, která třeba umí rozštěpit (pomocí příslušných enzymů) maltózu a sacharózu, ale ne trehalózu, a jinou, která umí štěpit sacharózu a trehalózu, ale ne maltózu. Kombinace vhodného počtu znaků může určit bakterii nejen na úroveň rodu, ale často i druhu. Problémem je jen skutečnost, že u některých bakterií je produkce některého enzymu variabilní (tedy některé kmeny určitý cukr štěpí, jiné kmeny neštěpí). - Zpravidla se postupuje tak, že bakterii předložíme substrát a po nějaké době hledáme produkt.

### **Katalázová (peroxidázová) reakce**

Je to velmi jednoduchá biochemická reakce, založená na průkazu peroxidázy, které se dříve říkalo kataláza. Reakci už její název zůstal. Používá se k rozlišování rodů bakterií, např. stafylokoky jsou kataláza pozitivní, streptokoky kataláza negativní.

Provedení: kolonie bakterie je smíchána s kapkou peroxidu vodíku. V případě pozitivity kapka šumí - vznikají bublinky kyslíku. Výhodou je, že výsledek je viditelný během několika vteřin.

### **Reakce na diagnostických prouzcích (stripech)**

Tyto reakce se také dají odečíst velmi rychle - během vteřin či nejpozději minut. Používá se plastových diagnostických prouzků, jejichž reakční ploška se zvlhčí a přitiskne na kolonie testované bakterie. Po určité době se pak sleduje, jestli na reakční plošce dojde k vývoji typického zbarvení (např. modrého, modrozeleného, červeného). V některých případech je barevná změna viditelná až po přikápnutí určitého činidla. Nejběžnější jsou:

- Oxidázová (cytochromoxidázová) reakce - nejdůležitější. Zbarvení je v pozitivním případě *modré*. Později si v rámci speciální bakteriologie budeme uvádět, které bakterie jsou oxidáza pozitivní a které oxidáza negativní - je to důležitý diagnostický znak. Oxidáza pozitivní bývají zpravidla striktní aeroby.
- Indoxylacetátová reakce - zbarvení v pozitivním případě *modrozelené*, k diagnostice branhamel (branhamely jsou občasní původci krčních infekcí, budeme se o nich učit později)

- Pyrazová reakce - zbarvení po přikápnutí činidla červené, používá se v různých případech u G+ koků i G- tyčinek

### Testy ve zkumavkách

- Jednoduché testy obsahují substrát (např. cukr) a indikátor. Do substrátu se vmíchá suspenze bakterie a inkubuje se přes noc. Když je reakce pozitivní, dojde k barevné změně; když je negativní, ke změně nedojde.
- Složité testy využívají vícesubstrátových směsí. Barevná změna může být např. jiná u hladiny (prsteneček určité barvy) a jiná v hloubce - to umožňuje zjistit více vlastností jednou zkumavkou. Příkladem je například tzv. test MIU: zkratka pochází z angličtiny - motility, indol, urea (pohyb, štěpení indolu, štěpení močoviny). Očkuje se vpichem do polotekuté kultivační půdy; pokud bakterie zůstanou v dráze vpichu, je pohyb negativní, rozšířily-li se po celé zkumavce, je pozitivní. Štěpení močoviny se projeví zružovněním média a štěpení indolu červeným prstencem u hladiny po přikápnutí činidla.

### Reakce v plastové mikrotitrační destičce („panelu“)

V podstatě jde o sérii miniaturizovaných jednoduchých zkumavkových testů. Bez ohledu na konkrétní podobu jednotlivých destičkových testů (liší se podle výrobce, nové výrobky od starších apod.) je princip prakticky vždy stejný: na dně důlků jsou lyofilizované substráty (případně substráty s indikátorem), do důlků se přikápnou suspenze bakterie a destička se nechá inkubovat (obvykle přes noc, u tzv. "rapid" testů jen několik hodin, ovšem při nižší kvalitě; naopak některé bakterie vyžadují kultivaci dvoudenní). Poté se hodnotí, u kterých testů došlo ke změně barvy. Hodnotí se to pouhým okem nebo automaticky - čtecím zařízením na principu spektrofotometru, který vysílá skrz důlek světelné paprsky různých vlnových délek a zjišťuje míru jejich pohlcení. Spolehlivost testu je dána především tím, kolik různých enzymatických reakcí je použito pro analýzu jednoho kmene - toto číslo se může pohybovat od osmi až po třicet a více. Výsledek má ovšem podobu šňůrky pozitivních (+) a negativních (-) reakcí; zbývá provést analýzu a zjistit, kterému známému druhu bakterie výsledky odpovídají nejvíce.

Testy jsou vyvinuty pro detailní identifikaci různých skupin bakterií či kvasinek; vláknité houby, viry a paraziti se jimi neurčují.

### Pokus na zvířeti

Pokus na zvířeti býval důležitou součástí diagnostiky v začátcích mikrobiologie. Šlo tehdy i o to, prokázat, zda příslušný mikrob vůbec je původcem nemoci - naočkoval se tedy pokusnému zvířeti a čekalo se, zda také u zvířete propuknou příznaky podobné těm u pacienta. V některých případech se podobně postupuje dodnes. Ovšem ne všechny klinicky významné mikroby jsou přenosné na pokusná zvířata; některé přenosné sice jsou, ale nevyvolávají příznaky nebo vyvolávají příznaky jiné než u člověka. Použití pokusných zvířat v posledních desetiletích značně omezily úspěchy nových metod. Přesto jsou případy, kdy zůstává pokus na zvířeti nenahraditelný.

Nejčastěji se používají myši (často malá, sající myšata), morčata, potkani, králíci; výjimečně (spíše ve výzkumu) opice či jiná exotická zvířata, například pásovec při diagnostice lepry.

Zvířata (hl. hospodářská) se ovšem v mikrobiologické diagnostice uplatňují i jinak, např. jejich séra jsou zdrojem protilátek, z jejich krvinek se připravují krevní agary (nejčastěji s ovčími, ale i např. s hovězími či koňskými erytrocyty) apod.

### Průkaz antigenu

Jedná se o metodu přímého průkazu, avšak způsob provedení je shodný s nepřímým průkazem (průkazem protilátek) - v obou případech se hovoří o tzv. sérologických reakcích. Ty budou proto probrány v další části diagnostiky.



## Průkaz nukleové kyseliny

Průkaz nukleové kyseliny (většinou průkaz DNA, občas i RNA) je moderní metoda, která umožňuje identifikovat i malá množství mikrobů, mikroby usmrčené, nebo dokonce mikroby, u kterých se nezachovala kompletní buňka či virová částice. Někdy je ovšem tento zvýšený záchyt spíše na škodu. Navíc je to metoda pořád ještě hodně drahá a náročná. Používá se proto jen u mikrobů, u kterých klasické metody nelze použít, nebo jsou příliš pomalé.

Průkaz nukleové kyseliny vlastně prokazuje geny mikrobů. Můžeme zjistit, jestli určitý mikrob má gen pro určitou bílkovinu, nebo pro rezistenci k určitému antibiotiku apod. Neříká to ovšem nic o tom, jestli je příslušný gen "zapnutý", tj. jestli ho mikrob. Mikrobiální (a každá jiná) buňka má totiž ve své genetické výbavě i geny "pro strýčka příhodu", které sice jsou přítomny, ale za dané situace se nepoužívají.

Konkrétně může mít průkaz nukleové kyseliny několik forem:

**GENOVÁ SONDA** je nejstarší metodou průkazu nukleové kyseliny. Sonda je vlastně úsek jednovláknité DNA, který je kompatibilní s hledaným úsekem (to znamená, že je schopen se s ním navázat za vzniku dvojšroubovice). Ve vzorku je nutno původní dvojláknovou DNA teplem rozštěpit na jednotlivá vlákna, a ta se pak vážou na sondu. Sonda je určitým způsobem označena tak, aby se něco (například konformace molekuly enzymu) změnilo po jejím navázání. Tím se pak "zviditelní", že k reakci došlo.

**POLYMERÁZOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE (PCR)**. Je obdobou předchozí metody s tím rozdílem, že nukleová kyselina se před vlastní detekcí namnoží - amplifluje. K amplifikaci se používá tzv. Taq polymeráza z mikroba *Thermophilus aquaticus*, který žije v horkých pramenech. Žádná jiná polymeráza by se nedala použít, protože by nevydržela zahřátí, které amplifikaci musí předcházet (cílem je opět rozštěpení dvojláknové DNA na jednotlivá vlákna). I v tomto případě se používají izolované kusy příslušné mikrobiální DNA, takzvané primery (čti "prajmry"). Pokud vzorek obsahuje úsek DNA, který je zrcadlovým protějškem k DNA z primeru (= je to druhý polovina téže dvojšroubovice), začne probíhat reakce; na rozdíl od genové sondy ovšem reakce probíhá v daleko větším měřítku. Výsledkem je mnohonásobné namnožení nukleové kyseliny, která je pak detekována např. elektroforézou. Reakce je velmi citlivá, bohužel někdy až příliš. Nedá se použít pro mikroby, které se vyskytují běžně v prostředí - i při maximální opatrnosti by se totiž těžko dalo zabránit vlétnutí molekuly (stačí jediná molekula!) DNA do přístroje, a už by byla reakce pozitivní. Použit se dá zato i tam, kde mikrob už dávno není živý, ale jeho nukleová kyselina je zachována, např. při průkazu TBC ve středověkých kostech. Při výzkumu se např. podařilo nalézt DNA původce tuberkulózy v kosterních pozůstatcích z 12. století.

**LIGÁZOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE (LCR)** je velmi podobná, používá však jiný enzym. Upřímně řečeno, LCR byla pro určité firmy způsobem, jak dodávat zařízení pro řetězovou reakci, a přitom "obejít" patentem chráněný princip PCR.

**PRŮKAZ RNA** (virové, ale i bakteriální RNA vzniklé při transkripci) je také možný a občas se využívá v diagnostice.

## Sérologické metody

Sérologické metody jsou metody pracující s reakcí ANTIGEN - PROTILÁTKA (za vzniku komplexu). V užším slova smyslu se někdy za sérologické považují pouze ty reakce, kde se jako vzorek používá sérum, popřípadě reakce, kde se hledá protilátka.

Jednotlivé sérologické metody se od sebe liší pouze způsobem, jak je detekován komplex antigenu s protilátkou. Všechny se však dají použít ke všem účelům, dále uvedeným:

### Přehled využití sérologických metod

- **Průkaz antigenu pomocí protilátky** - použije se laboratorní protilátka (ze séra pokusného zvířete) a smíchá se
  - buďto se vzorkem pacienta, ve kterém hledáme antigen - pak jde o **přímý průkaz antigenu**

- nebo s kmenem, vypěstovaným z pacientova vzorku - pak jde o **identifikaci, antigenní analýzu**
- **Průkaz protilátky pomocí antigenu** - použije se laboratorní antigen a smíchá se s pacientovým sérem

VE VŠECH PŘÍPADECH PLATÍ, ŽE:

- pokud vznikl komplex antigen-protilátka, je reakce pozitivní
- pokud komplex nevznikl, je reakce negativní, něco v ní chybí

## Přehled sérologických metod

- Precipitace
- Aglutinace
- Komplementfixační reakce
- Neutralizace
- Reakce se značenými složkami
  - Imunofluorescence (IMF)
  - Radioimunoanalýza (RIA)
  - Enzymová imunoanalýza (EIA, ELISA)
  - Immunobloty

## Specifické a nespecifické antigeny

U většiny serologických reakcí se pracuje se specifickými antigeny - například s antigenem spalniček u protilátek proti spalničkám, se stafylokokovým antigenem u protilátek proti stafylokokům apod. Někdy je ale výhodné při nepřímém průkazu použít místo skutečného mikrobiálního antigenu nějakou levnější a bezpečnější látku, o které je známo, že je také schopna vázat příslušnou protilátku (někdy ale jen např. určitou třídu protilátek). Takovou látkou může být například kardiolipin - extrakt z hovězích srdcí při průkazu syfilis, nebo červené krvinky všelijakých zvířat při průkazu infakční mononukleózy (Paul-Bunnellova reakce). Hovoří se pak o nespecifickém antigenu a protilátky, které se s takovým antigenem spojují, se označují jako heterofilní protilátky.

## Jak zjistit u nepřímého průkazu, zda se jedná o akutní infekci?

Zatímco přímý průkaz (včetně průkazu antigenu a antigenní analýzy!!!) vždy dokazuje přítomnost mikroba, u nepřímého průkazu tomu tak není. Přítomnost protilátek pouze svědčí o tom, že se organismus někdy s mikrobem setkal. Přesto je možné aspoň s určitou pravděpodobností říci, jestli se o akutní infekci jedná, nebo jestli jsou protilátky nalezené v séru pacienta jen následkem infekce překonané dříve. Je potřeba využít některého z následujících tří způsobů:

- **Zjišťujeme, jaké je množství protilátek v séru a jestli se mění.** Využívá se toho, že v akutní fázi infekce množství protilátek prudce stoupá, pak zase klesá, a nakonec se udržuje na stálé, nízké hladině. Je ale těžké zjistit množství protilátek v séru absolutně (v gramech, v molech). Logicky ale - pokud je v séru hodně protilátek, můžeme takové sérum mnohonásobně zředit a pořád ještě bude reagovat s antigenem. Pokud je protilátek málo, bude reagovat jenom neředěné či málo ředěné sérum. Proto se připravují různá ředění séra (většinou geometrickou řadou: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 atd.) a všechna se míchají s antigenem. Tím získáme číslo zvané TITR, které udává, kolikrát se dá sérum zředit, aby ještě reagovalo s antigenem. Důležitý ale nebývá samotný titr, ale jeho změna během dvou či tří týdnů. Pokud během se během této doby titr zvýší aspoň čtyřikrát (= o dvě ředění, například z 20 na 80), jde velmi pravděpodobně o akutní infekci. Pouhé dvojnásobné zvýšení (= o jedno ředění) může být náhodné.

- **Zištujeme, k jaké třídě patří nalezené protilátky** - to ovšem umožňují pouze reakce se značenými složkami. Převaha IgM nad IgG svědčí pro akutní infekci
- **Zištujeme tzv. aviditu**, to je síla vazby protilátky na antigen. Čerstvé protilátky (u akutní infekce) bývají nízkavidní. Tato metoda je poměrně nová a zatím se příliš nepoužívá.

## Precipitace a aglutinace

jsou nejjednodušší metody, protože kromě antigenu a protilátky už v systému nemusí být nic jiného. Bývají ale méně přesné a dají se použít jen v některých případech. Komplex se projeví sám jako sraženina (precipitát nebo aglutinát).

Rozdíl mezi precipitací a aglutinací spočívá v tom, že u **precipitace** je antigen povahy koloidní (jako antigen vystupují jednotlivé makromolekuly), kdežto u **aglutinace** je povahy částicové - korpuskulární (jako antigen vystupují větší částičky, například celé bakterie).

### Některé praktické příklady precipitací a aglutinací

- **Prstencová precipitace** se dá dělat tam, kde se tekutina s antigenem svou hustotou podstatně liší od tekutiny s protilátkou. Hustší tekutina se převrství druhou a na styku obou tekutin dojde v pozitivním případě ke vzniku komplexu v podobě prstence.
- **Mikroprecipitace v agaru** využívá difúze antigenu a protilátky agarovou půdou. Používá se půda podobná půdě kultivační, ve které se nadělají důlky. Obvykle je jeden důlek uprostřed, do toho se nalije suspenze antigenu. Do důlků okolo se pak nalijí séra pacientů. V případě pozitivity se vytvoří bílá čárka vysráženého precipitátu mezi důlkem s antigenem a důlkem se sérem.
- **Precipitace vyvločkováním** je nejjednodušší precipitace. Prostě se obě složky smíchají ve zkumavce či v důlku panelu a v případě pozitivity vidíme vločky. Příkladem je RRR reakce k důkazu syfilis, u které se používá nespecifický antigen - kardiolipin (viz výše)
- **Agglutinace v panelu** je vlastně podobná vyvločkování, jenže jde o aglutinaci. Zpravidla se pracuje kvantitativně. Pro vyšetření jednoho vzorku slouží zpravidla celý řádek - jednotlivé důlky v rámci tohoto řádku se liší ředěním séra. Navíc zpravidla o řádek níž je sérum téhož pacienta, ale odebrané o dva až tři týdny později - takže porovnáním řádků snadno zjistíme, jedná-li se o akutní stav. Jednomu pacientovi tedy odpovídá jeden dvojřádek (první řádek pro první vzorek, druhý řádek pro druhý vzorek). - V některých případech se používá nespecifický antigen, např. červené krvinky u Paul-Bunnellovy reakce.
- **Agglutinace ve zkumavce** je podobná. Klasickým příkladem je Widalova reakce na průkaz tyfu. Tato reakce je výjimečná - rozhoduje v ní totiž hlavně samotná hodnota titru, nikoli jeho vzestup nebo pokles.
- **Agglutinace na sklíčku** se používá spíše k důkazu antigenu. Na podložním sklíčku nebo na kartonové kartičce se smíchá kolonie bakterie s kapkou séra a pozorujeme, jestli vzniknou vločky. Používá se k antigenní analýze - velmi detailní druhové nebo dokonce vnitrodruhové identifikaci např. u salmonel, shigel či escherichii.

### Agglutinace na nosičích

Je to zvláštní případ, vlastně precipitace převedená na aglutinaci. Používá se tam, kde máme koloidní antigen, ale potřebovali bychom korpuskulární. Řeší se to tak, že antigen navážeme na vhodnou částici. Jako částice se používají

- **Latexové částice** - pak se jedná o latexaglutinaci
- **Červené krvinky** - pak se jedná o hemaglutinaci (někdy se také hovoří o pasivní hemaglutinaci, čímž se zdůrazňuje, že erytrocyt není sám antigenem, ale pouze nosičem, na který je antigen navázán).

•

sem přijde obrázek Agglutinace na nosičích – nutno překreslit z jiného formátu

Rozdíl mezi reakcí s erytrocytem jako nespecifickým antigenem a erytrocytem jako nosičem skutečného mikrobiálního antigenu

### **Koaglutinace**

Některé bakterie, zejména stafylokoky, mají schopnost vázat protilátky za "opačný konec". Přídavek těchto bakterií může zesilovat vazbu a lépe zviditelnit aglutinát.

## **Komplementfixační reakce**

### **Co je to komplement**

Komplement je **přirozená složka humorální nespecifické, ale vlastně i specifické imunitní reakce** - viz kapitola o imunologii. Každé sérum obsahuje komplement. Pro komplementfixační reakci se ovšem nedá použít vlastní komplement pacienta, protože jeho množství je nejisté. Proto se vlastní pacientův komplement před reakcí inaktivuje, a do reakce se přidává komplement morčecí.

### **Princip komplementfixační reakce - 1. fáze**

V první fázi ke dvěma složkám (laboratorní antigen plus sérum od pacienta - nebo laboratorní protilátka plus vzorek, ve kterém předpokládáme antigen) přidáme komplement. Pokud je reakce pozitivní, komplement se naváže na komplex antigenu s protilátkou. Pokud je reakce negativní, komplement je volný.

Na komplementu je zajímavé to, že se neváže ani na samotnou protilátku, ani na samotný antigen - pouze na komplex, který z antigenu a protilátky vznikl. Právě proto se používá v rámci diagnostiky - pokud se komplement naváže, je jisté, že došlo ke vzniku komplexu. Problém je ale v tom, že navázání komplementu na komplex antigen-protilátka není samo o sobě vidět. Proto musí mít komplementfixační reakce ještě druhou fázi.

### **Princip komplementfixační reakce - 2. fáze**

Nyní přidáme do reakce tzv. indikátorový systém. Je to soustava známého antigenu (beraní erytrocyty) a známé protilátky (takzvaný amboceptor - králičí protilátka proti beraním erytrocytům). Tato soustava má jednu zajímavost: když se na ni naváže komplement, dojde k hemolýze erytrocytů. No a v tom je právě onen vtip: pokud se v první fázi všechny komplement vyvázel na soustavu antigen - protilátka, nezbyl žádný volný komplement a indikátorový systém zůstane nedotčen. Pokud ale byla reakce negativní, zůstal komplement volný, váže se na indikátorový systém a hemolyzuje ho. Znamená to, že hemolýza svědčí o negativitě reakce, nepřítomnost hemolýzy o pozitivitě.

### **Grafické znázornění průběhu reakce (nepřímá dg.)**

U přímé diagnostiky je to obdobné, jen u negat. je  $Ig + O + C'$ .

	POZITIVNÍ REAKCE	NEGATIVNÍ REAKCE
①	Ag + Ig + C' => komplex	Ag + Ø + C' => žádná reakce
②	<p>↓</p> Beraní erytrocyty + amboceptor + Ø (nezbyl volný komplement) <b>NEPŘÍTOMNOST HEMOLÝZY</b>	<p>↓</p> Beraní erytrocyty + amboceptor + komplement (zbyl volný, neměl se na co navázat) <b>HEMOLÝZA</b>

### Problémy

1. Kdybychom přidali do reakce příliš málo komplementu, reakce by nebyla viditelná. Kdyby ho bylo příliš mnoho, zůstal by i v pozitivním případě v systému přebytečný, volný komplement. Proto je nutno před reakcí provést tzv. titraci komplementu, tj. zjištění, kolik komplementu se má vlastně přidat.

2. Někdy se bohužel stává, že sérum pacienta obsahuje nějakou složku, která na sebe sama váže komplement (bez ohledu na protilátku a antigen) nebo ho nějak inaktivuje. Přítomnost takové složky samozřejmě vede k falešně pozitivním reakcím. Takovému séru se říká sérum antikomplementární. Proto se vždy provádí test antikomplementarity séra. Je to vlastně úplně normální komplementfixační reakce, jenom se do ní nedá jedna složka (u průkazu protilátky se vynechá laboratorní antigen, u hledání antigenu se vynechá laboratorní protilátka). V takovém případě nikdy nemůže vzniknout komplex - reakce by tedy logicky měla vypadat jako negativní (hemolýza). Pokud přesto dopadne jako pozitivní (není hemolýza), je sérum antikomplementární.

### Využití

KFR je běžně používaná zejména ve virologii, případě též v diagnostice hub a parazitů, méně často i bakterií. Ve virologii je to jedna z nejběžnějších metod u většiny běžných virů.

## Neutralizační reakce

### Kdy protilátka přímo neutralizuje účinek mikrobů?

V případě VIRŮ, které jsou malé, protilátka kromě různých dalších mechanismů účinku působí i přímo: virus má záslusk na nějakou buňku či krvinku, které by rád provedl nějakou neplechu, ale protilátka mu v tom zabrání. BAKTERIE jsou příliš velké na to, aby je mohla protilátka přímo inaktivovat. Co však protilátka nezmuže s bakteriemi, zmůže s jejich toxiny.

Neutralizační reakce se tedy používají nejčastěji ve VIROLOGII. Dají se použít také v BAKTERIOLOGII, ale většinou jenom v případě, že bakterie produkuje nějaký toxin; neutralizováno je působení toxinu, nikoli působení samotné bakterie.

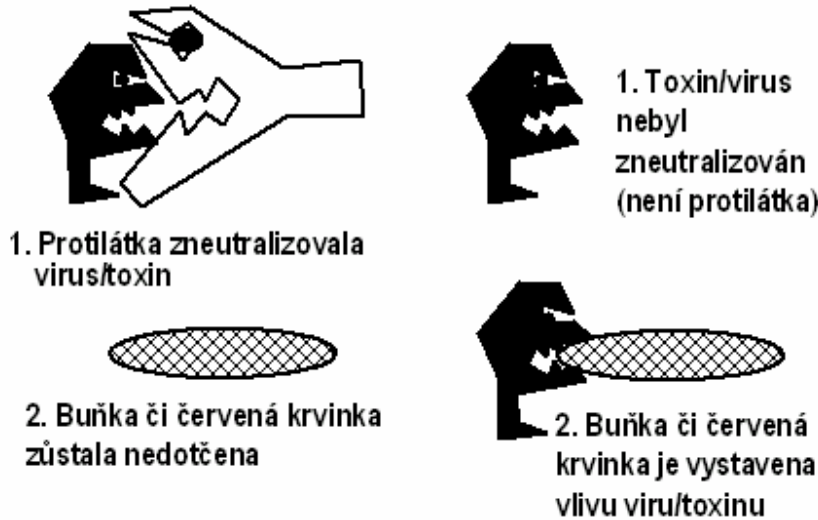
Antigenem v neutralizační reakci je tedy virus nebo bakt. toxin.

### JAK TEDY PROBÍHÁ NEUTRALIZAČNÍ REAKCE?

Běžnější je použití neutralizace v případě průkazu protilátky. Popišme si tedy pro začátek tento případ.

### Průkaz protilátky: antigen smícháme se vzorkem séra

POZITIVNÍ (v séru je protilátka)    NEGATIVNÍ (v séru není prot.)



### Průkaz antigenu: vzorek (kmen) smícháme se známkou protilátkou

Pokud vzorek zkusíme smíchat s různými protilátkami, a poté přidáme vhodnou buňku či krvinku, zjistíme, která protilátka dovede zabránit působení viru či toxinu - to tedy musí být protilátka "patřící" k danému antigenu

### Některé příklady neutralizačních reakcí

- **ASLO - antistreptolyzin O.** Prokazujeme protilátku proti streptokokovému toxinu. V tomto výjimečném případě nám nejde ani tak o toxin, ale o protilátku jako takovou - ona totiž často nespecificky reaguje s endokardem či ledvinnými glomeruly, vedouc tak k revmatické horečce či glomerulonefritidě. Antistreptolyzin O neutralizuje lýzu červených krvinek, kterou by normálně provedl streptolyzin O: to znamená, že v případě pozitivity (protilátka JE přítomna) nedojde k hemolýze, v případě negativity (protilátka NENÍ přítomna) k hemolýze dojde.
- **Hemaglutinačně inhibiční test** se používá ve virologii. Jde o to, že specifická protilátka je schopna zabránit virům shlukovat krvinky (jde o shlukování krvinek virem - virovou hemaglutinaci, které je in vitro schopna většina virů. Dvakrát pozor: 1) neplést s hemolýzou; a navíc - 2) tato virová hemaglutinace nemá nic společného s aglutinací tak, jak byla probrána dříve!)
- **Virusneutralizační test** se rovněž používá ve virologii. Spočívá v tom, že viry často ovlivňují metabolismus buněk, ve kterých se množí, měníce přitom jejich pH. Při použití vhodného indikátoru se taková změna může projevit změnou barvy - například důlku v panelu. Je-li tento efekt neutralizován příslušnou protilátkou, k ovlivnění metabolismu a tudíž ani ke změně barvy nedojde.



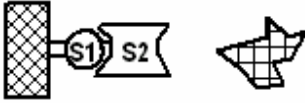

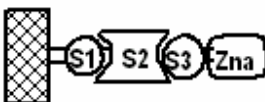

### Reakce se značenými složkami

Principem těchto reakcí je nepřerušovaný řetězec, jehož články jsou antigeny a protilátky; ne vždy je to jen jeden antigen a jedna protilátka. Řetězec začíná nějakým pevným povrchem (sklíčko, dno důlku) na který se naváže některá složka reakce, a končí - v pozitivním případě - nějakým "značidlem", které pak může být detekováno. Poslední složka, na kterou je "značidlo" navázáno (nakonjugováno - bývá to obvykle protilátka), se zpravidla označuje jako **konjugát**. V případě negativním jeden článek řetězku chybí, a proto všechny další, nejsouce pevně svázané s

povrchem, mohou být - a také jsou - vyplaveny při takzvaném "promývání". Promývání se dělá po každém novém kroku. Tímto způsobem nakonec skončí ve výlevce i to "značidlo".

### Příklad reakce se značenými složkami

Dejme tomu, že ve vzorku hledáme "složku 2", zatímco "složku 1" a "složku 3" do reakce přidáváme jako laboratorní reagens. Sledujme tedy průběh reakce.

POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
První krok: na pevný povrch se naváže laboratorní "složka 1".	
	
První promytí slouží pouze k odstranění všeho nenavázaného.	
Druhý krok: přidáme vzorek, dojde k navázání "složky 2"	Druhý krok: "složka 2" ve vzorku není, nemá se co navázat
	
Druhé promytí odstraní vše volné. "Složka 2" je však navázaná, a proto zůstává	Druhé promytí zde odstraní celý vzorek, protože vše je volné, nic se nenavázalo
Třetí krok: přidá se "složka 3", na kterou je navázáno "značidlo".	
	
Promylo se vše přebytečné, ale "složka 3" zůstává, protože je navázaná prostřednictvím "složky 1" a "složky 2" na povrch.	"Složka 3" se "značidlem" se neměla na co navázat. Zůstala volná, a proto byla promyta, včetně značidla.
Nyní je "značidlo" detekováno, reakce rozpoznána jako pozit.	Detekce "značidla" ukáže, že žádné značidlo v reakci není.

### Příklady uspořádání reakce u průkazu antigenu

- Na povrch je navázána protilátka (složka 1), přidán je vzorek, ve kterém hledáme antigen (složka 2), poté přidáme další protilátku, tentokrát značenou. Takto probíhá například průkaz antigenu žloutenky b - HBsAg ("australský antigen")
- V některých případech lze na povrch navázat přímo vzorek, ve kterém hledáme antigen, a pak jen zjistit, zda se protilátka naváže (a není promyta) nebo nenaváže (a je promyta) - jsou tedy jen dvě složky.

### Protilátky proti lidským protilátkám - k čemu jsou?

Je zapotřebí si uvědomit, že molekula protilátky může být také vnímána jinou protilátkou jako antigen. Různé zvířecí druhy jsou tedy schopny tvořit si protilátky proti lidským protilátkám. Tyto protilátky se často používají v těchto reakcích, zpravidla jako poslední složka se "značidlem" (konjugát).

Výtečné je, že je možno připravit protilátky proti lidským IgM protilátkám, konjugát proti IgG protilátkám, popřípadě též IgA. Protilátky proti IgM nereagují s IgG a naopak. To nám umožňuje zcela selektivně prokázat v pacientově séru přítomnost protilátek jednotlivých tříd, a to je vynikající věc (viz kapitola o tom, jak zjistit, zda je infekce aktuální)

### **Příklady uspořádání reakce u průkazu protilátky**

- Na povrch je navázán laboratorní antigen (složka 1), přidáno je pacientovo sérum. Obsahuje-li sérum protilátky, navážou se na antigen. Vše ostatní je promyto. Nyní přidáme značenou protilátku proti lidské protilátce jako složku 3. Pokud sérum obsahovalo protilátky příslušné třídy, má se konjugát na co navázat. V opačném případě je vyplaven z reakce pryč. Používá se např. při průkazu protilátek proti žloutence B.
- V některých případech se i jako složka 1 použije protilátka proti lidské protilátce

### **Jaká "značidla" se používají**

- Fluorescenční barvivo. V takovém případě je povrchem zpravidla podložní sklíčko a výsledný efekt je detekován prostřednictvím fluorescenčního mikroskopu. Výhodou je, že vidíme např. tvar bakterie. Hovoříme o imunofluorescenci.
- Radioizotop. V tom případě se efekt pozoruje pomocí vhodného přístroje k detekci radioaktivity. Metoda je náročná, vyžaduje laboratoř vybavenou pro práci s radioaktivním materiálem. Používá se dnes poměrně málo. Metoda se nazývá radioimunoassay či radioimunoesej, zkráceně RIA
- Enzym. V tom případě musí následovat ještě další fáze, ve které se přidá substrát reakce. Pokud je "značidlo" v podobě enzymu přítomno, dojde k rozštěpení substrátu na produkt, který se buďto liší barvou, nebo jej lze identifikovat s využitím indikátoru. Povrchem tu bývá dno důlku v panelu a celá reakce se dá snadno automatizovat: čím silněji reakce proběhla, tím intenzivnější je barevná změna, a tato intenzita barevné změny je měřitelná jako absorbance ve spektrofotometru. Nejběžnější variantou této reakce je reakce ELISA - je to zkratka a znamená enzym linked immuno sorbent assay. ELISy se postupně staly standardními vyšetřovacími metodami u velkého množství mikrobů, nahradily starší a méně přesné metody.

### **Imunoblotty (Western Blot)**

Imunoblotty jsou vlastně speciálním případem reakce ELISA. Od klasické ELISy se výrazně liší metodou přípravy antigenu.

U klasické ELISy se prostě použije celý mikrob, a s ním pak mají možnost reagovat všechny protilátky, které jsou kompatibilní s kterýmkoli z antigenů, který se na povrchu mikroba nalézá. Takových antigenů tam může být mnoho.

Někdy je ale výhodné pracovat se skutečnými jednotlivými antigeny. Je to především tehdy, kdy máme několik příbuzných mikrobů, které mají některé antigeny shodné a jiné odlišné. Imunoblotová technika nám umožní antigeny navzájem oddělit a dopídit se zjištění, který z nich vlastně reagoval.

Antigeny jsou uvolněny z povrchu mikroba, rozděleny elektroforézou podle své hmotnosti a pak, opět elektroforeticky, přeneseny na speciální fólii. V tu chvíli pak začnou fungovat jako "běžný" antigen v reakci ELISA, dále už je to tedy všechno stejné.

Metoda se používá například u borrelií - existuje jich několik druhů, které jsou antigenně příbuzné, ale ne totožné.

Zajímavý je vznik názvu. "Blotting" v angličtině původně znamenalo přesátí kaňky ze sešitu na savý papír. A první část? U zrodu metody stál jistý pan Southern (southern = anglicky jižní). Po něm se původní metoda nazývala Southern blotting. Jeho vtipní kolegové pak metodu vylepšili a nazvali ji z recese Western blotting (western = anglicky západní)

### **Automatizace v sérologii**

Velkou výhodou zejména moderních metod, jako jsou ELISy a Western bloty, je možnost automatizace. Dnes již existují automaty, které jsou schopny celou reakci provést samy - hlídají



potřebné časy reakcí, přidávají činidla, promývají apod. Takto funguje např. přístroj "Elisamat", kterému se na mikrobiologii u sv. Anny začalo říkat "Kryštofek", protože jedna jeho část je od firmy Columbus. Ze začátku s ním byly jisté problémy, např. do reakce omylem přidal etanol namísto kyseliny sírové. Toto dokumentuje následující píseň s názvem "Kryštofek".

1. Ten den všechno chystalo se na velikou slávu  
jako kdyby měli přivést posvátnou nám krávu  
Chyběly jen prapory a duo Lábus - Kaiser  
když měl přijít na serolku slavný minilyzer  
Škatulata hejbal se v nebyvalé míře  
neboť místo dělalo se pro posvátné zvíře  
Od těch dob co dorazilo to památné ráno  
Všichni se s ním spřátelili, Kryštofek je zváno.  
**R. Kryštofek nám denně mění všední chvíle v svátky  
neobjeví Ameriku, zato protilátky.**

**/:Bez Kryštofa byli bychom ubožáci málem  
Kryštofek je našim velkým elisovým králem!:/**

2. Bohužel se naše zvíře z kovu skla a plastu  
oddávati začalo nám z ničeho nic chlastu.  
Zkrátka místo vitriolu líh mu lépe chutná  
Serolka i virolka je z toho celá smutná.  
Kryštofek je náročný a ošidit se nedá  
a ta jeho obsluha je učiněná věda  
Ti co máme rodiny to celkem dobře chápem  
S Kryštofkem je stejná práce jak má žena s chlapem **Refrén**

# Hygiena

## Základní pojmy

### **HYGIENA**

1. soustava pravidel, která směřují k udržení zdraví a k potlačení nemoci
2. obor lidské činnosti, který se zabývá vytvářením těchto pravidel a prosazuje jejich dodržování

### **EPIDEMIOLOGIE**

je věda, která se snaží zjistit, proč je v některém místě a období víc a někde méně nemocí než jinde nebo v jiném období (tedy snaží se zjistit **příčiny** nemocnosti), díky tomu co zjistí se snaží předpovědět další **vývoj** a najít vhodné **řešení** - ne pro jednotlivce, ale pro všechny obyvatele určitého místa, města, nebo dokonce země či kontinentu.

U nás se pod pojmem "epidemiologie" rozumí především **epidemiologie infekčních nemocí**. Naproti tomu v zahraničí se hovoří často o tzv. **neinfekční epidemiologii**, která zkoumá třeba vztah mezi zdrojem znečištění ovzduší a nemocemi dýchacích cest.

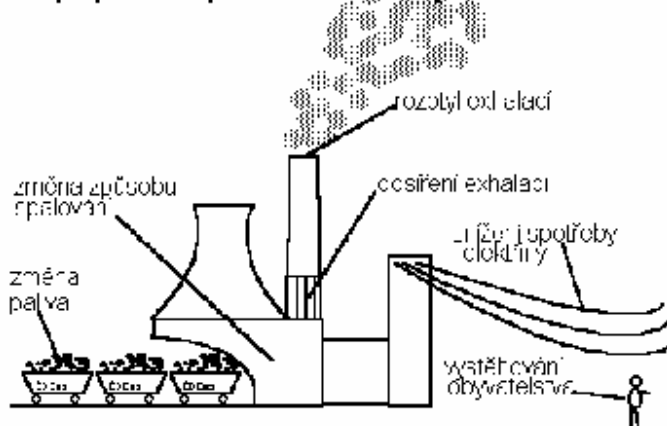
### **ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ**

je všechno, co ovlivňuje život člověka a jiných organismů a je jím naopak ovlivňováno.

To znamená, že **člověk a životní prostředí tvoří dohromady jeden systém**, mezi člověkem a jeho prostředím existují obousměrné vazby (člověk něco dává do prostředí a něco od něj přijímá). Tyto vazby nemusí být materiální, mohou být i informační. Do životního prostředí nepatří

jen to, co člověk pije a dýchá, ale také mezi jakými lidmi žije. "Ochrana životního prostředí" je tedy širší pojem než "ochrana přírody". Co se týče přírody, je třeba chránit její rozmanitost (biodiverzitu). Většinou není potřeba do ní aktivně zasahovat - reguluje se sama, dokud člověk významně nezasáhne (příroda nahradí několik vykáčených stromů, ale už ne velký kus lesa, kde eroze zničí půdu).

### Možnosti zlepšení životního prostředí v případě tepelné elektrárny



## ZDRAVÍ

tak, jak se chápá v moderní době, není jen nepřítomnost nemoci, ale i stav plného fyzického, duševního a sociálního (společenského) uspokojení. Nelze léčit jen určitou nemoc, ale je potřeba vždy léčit celého člověka.

Mohou existovat různé vlivy na zdraví, především:

- dědičnost
- chování (potravní zvyklosti, pohyb, denní režim apod.)
- vnější prostředí (včetně infekcí)
- dosud neznámé vlivy

Mnoho lidí si myslí, že nejdůležitější je vnější prostředí (a jeho znečištění), popřípadě dědičnost. Ve skutečnosti úplně **nejdůležitější je způsob chování** - tedy jaký způsob života vedeme, jakou máme pohybovou aktivitu, stravu, jak na nás psychicky působí okolí apod. Téměř každá choroba má ovšem ve skutečnosti více než jednu příčinu.

## CIVILIZAČNÍ CHOROBY

Za normálních okolností se tělo umí vypořádat s většinou podnětů zvenčí. Pokud tato jeho schopnost selže, vznikají tzv. civilizační choroby. Jsou to nemoci do tohoto století vzácné. Patří sem většina alergií, srdečně cévní nemoci, mnoho nádorů, žaludeční a dvanáctníkové vředy, cukrovka, kazivost zubů, neurózy a některé další psychické nemoci (v jistém smyslu i sebevražednost), narkomanie aj.

## Sřřední délka života

Civilizační choroby, ale samozřejmě i spousta "obyčejných", už dávno známých nemocí, ovlivňuje délku a kvalitu našeho života. Rozhodující samozřejmě není jen délka - jak řekl trefně Jan Werich, měřeno podle kvality života, mnozí -letí už by tu dávno nemuseli být, a naopak třeba Shakespeare by tu mohl být ještě dlouhá léta. Přesto se pochopitelně délka života považuje za důležitý ukazatel životní úrovně. Je ale třeba říci, že tzv. **"sřřední délka života při narození"** je statistický údaj, a znamená předpokládaný průměr. Zatímco někteří lidé zemřou již jako novorozenci nebo kojenci, jiní se naopak dožijí mnohem vyššího věku. Používá se také údaj **"předpokládaná délka dožití"**, tj. jak dlouho ještě bude žít člověk dnes třeba dvacetiletý či

šedesátiletý. Pro tyto osoby obvykle vychází průměrný věk při úmrtí vyšší z logického důvodu, že pokud se někdo dožil 60 let, už není možné, aby zemřel ve čtyřiceti.

## **Ekologie a průmysl**

nemusí stát vždy v protikladu. Naopak, mnohdy ekonomická nutnost vede k šetření surovinami a energií, což je zároveň i ekologické. Důležité samozřejmě je, aby před každou větší průmyslovou nebo dopravní stavbou či přestavbou byly zmapovány její vlivy na prostředí a na obyvatelstvo. Používá se k tomu zkušeností z podobných staveb, modelů apod.

## **Metody hygieny a epidemiologie**

(to znamená co používá hygiena k tomu, aby zjistila vliv mezi nějakým faktorem a lidským zdravím)

1. POZOROVÁNÍ je nejjednodušší a v mnoha případech úplně postačující
2. LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ může být potřeba např. u chemických nebo infekčních vlivů. Vyšetřuje se vzduch, voda, potraviny a mnoho dalších vzorků, přičemž se používá řady metod
3. VYŠETŘENÍ OSOB připadá v úvahu hlavně při výzkumu, protože při praktické hygienické práci obvykle není rozhodující, zda ten či onen faktor měl vliv na zdraví, ale jestli byla překročena norma. To se zdá cynické, ale má to svou logiku: továrna těžko může kontrolovat, kolik lidí očoudí jeho komín a co s nimi kouř provede, ale snadno může kontrolovat koncentraci škodlivin v kouři. Vyšetřování osob může být klinické, nebo opět laboratorní, včetně imunologického, toxikologického apod. V některých případech se zkoumají i kosterní pozůstatky osob dávno zemřelých.
4. STATISTICKÉ HODNOCENÍ navazuje na předchozí metody tehdy, když hygienikům nejde o jednotlivý případ, ale o obecné zhodnocení nějakého vlivu. Bez statistického zhodnocení nelze posoudit, jestli jde o významné ovlivnění nebo o náhodu.
5. EPIDEMIOLOGICKÉ A HYGIENICKÉ ŠETŘENÍ je označení pro celkový přístup k určitému problému. Znamená vyšetření věci po všech stránkách, zhodnocení dostupnými metodami a případně i návrh řešení.

## **Praktická hygiena u nás**

V České republice má hygienická služba tradici a vysokou úroveň. Bohužel jí neprospívá nejistota, která kolem pracovišť hygieny v poslední době panuje.

- Základem je zatím stále síť **okresních hygienických stanic** (v Brně Městská hygienická stanice), které doplňují a koordinují **krajské hygienické stanice** a **hlavní hygienik** ve spolupráci s ministerstvem zdravotnictví. Svou vlastní síť hygieniků má **železnice a armáda**, nemocnice mají své **ústavní hygieniky**. Hygienické stanice jsou vlastně odborné úřady, vybavené laboratořemi a přístroji k posouzení nejrůznějších věcí.
- hygiena živočišných výrobků (maso, mléko...) je sledována **okresními veterinárními správami**
- hygienu výroby a prodeje zejména potravin sleduje též **Česká obchodní inspekce** a **Česká zemědělsko-potravinářská inspekce**
- na **hygienických a epidemiologických ústavech lékařských a veterinárních fakult** probíhá především výzkum, nikoli praktická kontrola

## **Rozdělení hygieny**

Hygiena obecná a komunální (posuzování hygienické vhodnosti staveb, měření hluku, ovzduší, vody, osvětlení, bydlení, bazény, nepotravinářské prodejny, zčásti i ordinace)

Hygiena výživy (potravinářské výroby, prodejny, veškeré stravování)

Hygiena dětí a dorostu (pracovníci této specializace kontrolují všechny stupně škol a učilišť včetně školního stravování, učňovská pracoviště, internáty, tábory)

Hygiena zdravotnických zařízení (prevence nemocničních infekcí). Pracovníci, zabývající se touto problematikou, zpravidla též celkově posuzují desinfekci, desinsekci a deratizaci  
Hygiena práce (negativní vlivy při práci, souvisí s problematikou nemocí z povolání)  
Hygiena osobní včetně psychohygieny: tato oblast závisí spíše na jednotlivcích. Instituce (hygienické stanice) tady nemohou nařizovat, jen radit a dělat osvětu

### **Primární a sekundární prevence**

PRIMÁRNÍ PREVENCE znamená předcházení nemocem všeobecně, týká se všeho obyvatelstva nebo podstatné části (očkování, výchova k pohybu a zdravé stravě ve školách, všeobecně platné vyhlášky, které regulují provoz restaurací, továren z hlediska vypouštění škodlivin apod.). Může se týkat úplně všech, anebo tzv. cílových (rizikových) skupin - třeba všech dětí určitého věku, všech zdravotníků, všech vojáků základní služby a podobně.

SEKUNDÁRNÍ PREVENCE se snaží zabránit dalšímu šíření nemocí, které už nastaly. Patří sem např. opatření ve vesnici, kde se zhoršila kvalita vody, nebo opatření v rodině, kde se vyskytla salmonelóza. Vychází vždycky z konkrétní situace v daném místě.

PROFYLAXE je snaha zabránit rozvoji nemoci u jedince, který se už možná nakazil. Týká se tedy jednotlivce a nikoli společnosti; proto tento pojem vlastně nepatří do epidemiologie

### **Infekce**

(česky nákaza) znamená, že patogenní (= nemoc způsobující) mikroorganismus vstoupil do našeho těla a zabydlel se tam. Neznámá to nutně, že způsobil nemoc. Existují infekce bezpříznakové, tj. že z nějakého důvodu se nemoc neprojeví (třeba proto, že mikrobů je příliš málo) či dokonce stavy dlouhodobého bezpříznakového nosičství (např. u tyfu). Naopak projevy nemoci mohou přetrvávat i v době, kdy již původce nemoci není v těle přítomen.

### **Dozor prováděný hygieniky**

- **Preventivní hygienický dozor** - schvalování chystaných projektů (staveb, vodáren, továren...). V současné době se omezuje.
- **Běžný hygienický dozor** - dozor za provozu zařízení (např. kontrola kvality vody v síti). Stále bude nutný, jde o ochranu obyvatel.

### **Hygiena hluku**

Hluk = akustické vlnění, hladina hluku se měří v **decibelech**.

Hodnotí se tam, kde se vytváří (továrny, dílny, ale i domovní kotelny...), i tam, kde by mohl škodit (byty, školy). Hygienický posudek může vést ke snížení nájmu (i při dopravním hluku) až o 10 %.

Kromě **hladiny hluku** je také důležité, **po jakou dobu** hluk nastává, **jak často** a **kdy během dne**. Pro hodnocení hluku jsou přísnější kritéria v noci, ve školách a obytných domech. Někdy také rozhoduje **frekvenční skladba hluku**, tj. např. jde-li o vysoké, kvílivé zvuky, které jsou obzvláště nepříjemné.

Hluk ovlivňuje sluch i nervovou soustavu. Pracovníci, kteří pracují v hlučném prostředí, by měli nosit ochranné pomůcky, doma je vhodné situovat ložnici raději do dvora než do ulice.

### **Hygiena osvětlení**

Kde má někdo bydlet nebo pracovat, se hodnotí osvětlení - důležité je, aby i do nejzazšího kouta dopadl relativní dostatek světla. Kromě **osvětlení**, které se hodnotí v jednotkách osvětlení (**luxech**) se také hodnotí **oslunění** - to znamená doba, po kterou dopadá do místnosti slunce. Kromě **přirozeného osvětlení** denním světlem je důležité i **osvětlení umělé** - zde se hodnotí také

stálost (blikající zářivky ničí zrak!) a barevné složení světla. Byt ovšem musí mít přirozené osvětlení, u pracovišť se někdy povolují výjimky (např. obchod v podchodu, horníci, řidiči metra). Příliš světla také škodí - svářeči musí nosit brýle. V bytě je vhodné, aby obývací a dětský pokoj měl okna na jih nebo východ. Naopak ložnice by měly mít okna spíše na sever.

## Hygiena tepla

V pracovním prostředí, školách aj. existují vyhlášky, které stanovují dolní i horní meze přípustné teploty. Doma si teplotu obvykle regulujeme sami. V obytných místnostech má být kolem 20 °C (může stačit i 18 °C), v koupelně kolem 25 °C (jsme v ní nahatí), v chodbách kolem 15 °C.

## Hygiena ovzduší

Má vliv přímý (na dýchání) i nepřímo na život. prostředí (kyselé deště...).

Ke znečištění může docházet **trvale**, anebo **občas** při průmyslové havárii. Některé továrny (chemické, papírný apod.) produkují speciální znečišťující látky. Běžně ale existují dva hlavní typy znečištění, které také vedou ke dvěma typům smogu. (SMOG je vlastně mlha, ve které se kapičky vody srážejí nikoli na drobných vodních částicích jako u normální mlhy, ale na molekulách a částicích znečišťujících látek).

**A. "ZIMNÍ", "LONDÝNSKÝ" SMOG** - vzniká **spalováním uhlí**, zejména hnědého, méně ropy a zemního plynu. Mohou zaň teplárny, elektrárny, ale hlavně domácnosti, kde se topí uhlím. Obsahuje především:

1. **Oxidy síry** (oxid siřičitý, může oxidovat na oxid sírový,  $\text{SO}_2$  kyselina sírová): vzniká při spalování látek s obsahem síry, vede k tvorbě kyselých dešťů
2. **Popílek** - jemné, téměř neviditelné prachové částice. Některé z nich jsou nebezpečné tím, že po vdechnutí je lze jen velmi těžko vydechnout.

**B. "LETNÍ", "LOSANGELESKÝ" SMOG** - hl. především výfukové plyny automobilů. Obsahuje především:

1. **Oxidy dusíku**, - tvoří radikály). Radikály mohou být rakovinotvorné.
2. **Ozón**. To je plyn, který se normálně vyskytuje přes 10 kilometrů nad zemí a jeho vrstva v atmosféře nás chrání před ultrafialovým zářením. Na zemi ale jeho přílišné koncentrace škodí. I on totiž tvoří radikály.

V praxi se většinou sledují 24hodinové průměrné koncentrace oxidu siřičitého, oxidů dusíku a popílku, v některých případech i jednohodinové, u kterých jsou povolené vyšší limity (protože jde jen o chvilkové překročení).

Důležité jsou i látky **UVNITŘ budov**, protože tam žijeme a protože se odtud tyto látky těžko dostanou ven: **oxid uhličitý**, ale i **uhelnatý** při topení kamny v místnosti, radioaktivní plyn **radon** (někde uvolňuje z podloží budov nebo stavebních materiálů), a také třeba **formaldehyd**, který se vypařuje z překližek a dřevotřísek. Ve vnitřním ovzduší se také mohou koncentrovat mikroby, (**chřipkové viry**). Může pomoci krátké, ale důkladné větrání. Některé látky jsou aromatické a mají vliv na **čichovou pohodu** člověka.

## Hygiena vody

### Voda na zeměkouli

(V) = běžně využíváno k pitným účelům

- **Mořská voda** - světový oceán. Obsah solí i znečištění různý
- **Vzdušná voda** - oblaka, mlhy, ale i neviditelné vodní páry
- **Podzemní voda** - různý obsah min. látek, ale také znečišťujících látek (V)
- **Povrchová voda**
  - v pevné formě - ledovce (využití pro pitnou vodu v budoucnosti?)

- v *tekuté formě* - řeky, jezera, přehrady, rybníky (V)
- Voda v **živých organismech** - objem. nevýznamná, ale ekolog. důležitá

### Voda - negativní důsledky lidské činnosti

- **znečištění** chemické, mikrobiol., narušení ekosystémů vod a pobřeží
  - **zemědělství** - hnojiva, pesticidy: znečišťování na velkých územích; zemědělství je největší znečišťovatel, ale znečištění nebývá bodové
  - **průmysl** - bodové znečištění jednak trvalé, jednak havárie
  - **obyvatelstvo** - není nevýznamné, např. prací prášky obsahují fosfáty
- neuvážené **úpravy vodních toků** (tzv. meliorace)
  - voda se rychle odvede z území ⇒ změna klimatických poměrů
  - ztráta samočišticí schopnosti - betonová koryta, mizení organismů

### Voda - užitek pro člověka

- technologic. v **průmyslu** a zeměd. - nároky na kvalitu různé dle technol.
- zavlažovací v **zemědělství** - nároky na kvalitu různé podle druhu plodiny
- užitková a pitná pro **obyvatele** (obv. není rozlišena ⇒ z téhož kohoutku)

### Voda pitná, stolní, kojenecká, minerální

- každá kategorie musí splňovat určité požadavky - některé jsou u všech:
  - **zdroj** musí být zajištěn proti znečištění. Dříve byla pásma ochrany, dnes posuzují dostatečnost ochrany zdroje vodohospodář
  - vlastní **kvalita vody** se skládá z těchto tří položek:

**biologické** ukazatele se zaměřují na množství řas a bičíkoviců

**mikrobiologické** (množství psychrofilních, mezofilních, koliform. bakt.)

**chemické** ukazatele - některé méně závažné (železo, barva), jiné zásadní (dusičnany, kyanidy); v chlorov. vodě též přítomnost chlóru

- Pitná voda je určena jen svým složením. Stolní voda se prodává v obchodech, kritéria jsou o něco přísnější než u pitné. Kojenecká voda nesmí být upravována, tj. musí být přímo stáčena do lahví. Ale i požadavky na složení jsou přísnější: pitná voda požaduje u dusičnanů max. 50 mg/l, kojeneck. jen 15 mg/l. Minerální voda je jako stolní, ale ↑ obsah solí.

### Hygiena odpadů

- **tekuté komunální** odpady (ovšem včetně tuhé stolice!)
  - splašky z koupelen, kuchyní a WC - dnes mj. množství detergentů
  - dešťová voda z ulic - i ta může mít významný obsah např. olejů
- **tekuté** odpady z průmyslu, zemědělství a jiných **provozů** - mohou být i toxické, infekční (nemocnice!)
- **pevné komunální** (z domácn.) - i zde jedy! (akumulátory, monočlánky)
- **pevné průmyslové** (někdy velice nebezpečné a obtížně likvidovatelné)

Třídění odpadů zamezuje znečištění živ. prostředí - může vést

- k tvorbě neškodných produktů, nebo ještě lépe
- k tvorbě užitkovatelných produktů (recyklace)

Skládky či spalovny? Dobrá spal. nahradí spoustu sládek jedinou skládkou strusky. Je i zdrojem tepla. Produkty spalování musí být účinně čištěny.

### Hygiena výživy

#### Zdravá výživa musí splňovat

- podmínku vhodného **složení** (tuky, vitamíny atd.)

- podmínku **mikrobiální čistoty** (nemusí a často ani nemůže být bez mikrobů /jogurty!/, ale nesmí mít vliv na zdravotní nezávadnost - tj. nesmí jich být více než je povoleno a nesmí tam být patogeny)
- podmínku **nezávadnosti z hlediska cizorodých látek** (těžké kovy apod.)

### **Dodržení těchto podmínek závisí na**

- **surovinách** - obvykle produktech zemědělské výroby, výjimečně průmyslu a těžby (sůl, voda k výrobě nápojů, konzervační prostředky)
- **výrobě** - odpadá u ovoce, zeleniny apod., naopak někdy je několikanásobný (cukrovar - čokoládovna - výroba čokoládové zmrzliny)
- **distribuční a prodejní síti** (sklady, obchody, stánky, restaurace, bufety)
- **spotřebiteli** - jak potravinu upraví a spotřebuje
- **dopravě na všech stupních** (od výrobce po spotřebitele)

### **Některé časté zjišťované nedostatky**

- nevhodné **uskladnění** (vlhkost, teplota, vzájemné ovlivnění potravin)
- **prodej za nevyhovujících podmínek** (ne vše lze např. vařit na stánku)
- není **odděleno nádobí a pracovní plochy** na suroviny a hotové výrobky
- **zamrazování masa**: když se jednou maso rozmrazí, nelze jej už zmrazit znovu - naruší se struktura a po opětovném rozmrazení se rychle kazí
- zakázaný **prodej krájených potravin** (melounů, hub)
- prodavač zmrzliny podává kornout stejnou **rukou**, kterou bere peníze
- zvýšený obsah některé **cizorodé látky** může souviset se způsobem krmení či hnojení; v posledních letech méně často
- s potravinami manipulují **nezpůsobilé osoby** (nemají zdravotní průkaz)

*NEMOC ŠÍLENÝCH KRAV (BSE - Bovinní spongiformní encefalitida, neboli houbovitý zánět mozku hovězího dobytka), která se možná - i když je to málo pravděpodobné - přenáší na člověka, je chorobou, která se vyvíjí při nesprávném krmení dobytka masokostní moučkou. Samozřejmě, v době, kdy se o chorobě nevědělo, se toto krmení nepovažovalo za nesprávné.*

## **Komunální hygiena**

= hygiena běžného života. Při bydlení působí nejrůznější vlivy z domu i z jeho okolí, jak ukazuje obrázek. Řešení některých problémů komunální hygieny je obtížné (jednání s majiteli domů, provozoven, s různými podnikateli apod.). Z hlediska hygieny lze hodnotit jen pravidelné zatěžování (např. hlukem). Jednotlivé rušení opilcem musí řešit Policie ČR, popř. s místní (městskou) policií. Nebo by aspoň měla.

### **rostliny a živočichové v bytě**

- významně zlepšují psychickou pohodu při bydlení,
- jsou někdy zdrojem problémů pro obyvatele bytu, u zvířat někdy i pro obyvatele okolních bytů či domů.

Není vhodné pěstovat **jedovaté rostliny** tam, kde jsou malé děti, rostliny které **alergizují** v bytě, kde žijí alergici. Také kůže většiny zvířat vyvolává alergie, proto je-li dítě alergické, je lépe se chovu zvířat zdržet.

Chov zvířat psychicky narušenými osobami (chov několika desítek psů či koček apod.): nejen hyg. závady, ale i týrání zvířat. Obtížně se dokazuje.

## **Osobní hygiena**

Na žádné hygienické stanici nenajdete "oddělení osobní hygieny", zato osobní hygiena nejvíc odpovídá tomu, co si lidé většinou pod pojmem "hygiena" představují, i když i zde je ve

skutečnosti obsah pojmu širší. Dodržování skutečně správné osobní hygieny není zase taková samozřejmost.

### **umývání nebo desinfekce? umývání, výjimečně oboje!**

Je třeba **umýt si ruce** po příchodu zvenčí, po použití WC či před jídlem, ale také třeba mezi manipulací se syrovou potravinou a hotovým jídlem a podobně. Umývání celého těla mýdlem by nemělo být nadměrné. Mýdlo odstraní s mikroby, ale i ochrannou mikrovrstvu potu. **Desinfekce** by se měla v os. hygieně používat jen v odůvodněných případech (střevní nákaza, manipulace s mikroby). Desinfekce rozhodně nemůže nahradit umytí.

Kůže na **rukou** je adaptovaná na mechanické i chemické namáhání, časté umývání mýdlem, popř. i desinfekce, jí tolik nevadí. Je-li přesto příliš velké, lze použít regeneračních prostředků (např. Indulona). **Obličej** je rovněž v přímém styku s vnějším prostředím. Ve **vlasech/vousech** se může . kouř držet déle než na neochlupené části pokožky. Hygiena **vnějších pohlavních orgánů**: přednost má dobré mechanické omytí před působením mýdla. Kvasinkové infekce vyšší pH podporuje! Při péči o děti je potřeba odložit škodlivý stud a hygieně těchto částí těla se věnovat.

**U zdravotníků (včetně zdrav. laborantů)** je často na místě i desinfekce (ovšem ne desinfekce MÍSTO umytí, ale desinfekce A umytí). Je tady také potřeba upozornit na vhodnou úpravu zevnějšku, která dodržení hygieny umožňuje. Týká se to zejména vlasů, nehtů, nenošení šperků na ruku.

### **Styl života**

je důležitou součástí předcházení nemocí (infekčních i neinfekčních).

- vhodná vyvážená **výživa**. (hlavně pestrá, ne extrémní, ne uzeny)
- **pohyb**, a to nikoli jednostranný. Vhodné je plavání, cyklistika, turistika..
- dostatek **spánku**: u dětí podle věku 8 - 11 hodin, u dospělých alespoň 7 až 8. Ideální je, pokud lze respektovat založení člověka (sova/skřivánek).
- pojem **psychohygiena** znamená nezabývat se zbytečně problémy, které nemohou ovlivnit, nenechat se zbytečně stresovat. Používat "zdravý selský rozum" při řešení životních problémů, ale i třeba při výběru stravy.

### **Hygiena dětí a dorostu**

- sledování **osvětlení** v učebnách, **hluku**, dostatek umyvadel, WC apod.
- školní **stravování**: posuzuje se obdobně, jako hygiena výživy posuzuje jiné druhy stravování, + navíc se sleduje také vhodná skladba stravy
- na **internátech** se kontroluje, zda na každého ubytovaného připadá dostatečná plocha, a opět WC, umyvadla apod.
- v továrnách, kde jsou **učni**, se sledují jejich pracovní podmínky
- u učňů se také sleduje **dodržování pracovní doby** a přestávek v práci
- HDD provádí také dohled nad **tábory, školami v přírodě** apod.

Důležité je: Vhodný denní a pohybový režim, vyvážená strava, ochrana před nepříznivými vlivy včetně psychických.

### **Letní tábory**

- + dostatek pohybu, střídavější strava
- - je obtížnější dodržovat zásady hygieny než doma. Pozor zejména na:
  - **pitnou vodu** - zdroj p. v. = bezpodmínečná podmínka táboření
  - hospodaření s **potravinami** (některé rizikové potraviny se na táboře vůbec nesmějí jíst; i na táboře je třeba dodržet zásady oddělení práce se syrovými a s hotovými potravinami)
  - **režim stravování** (jako ve školách - poměr živin, dostatek tekutin)



- **režim dětí** (fyzická námaha úměrná věku, dostatek spánku)
- možnost alespoň občasného umytí celého těla
- **latriny** - již se nesype chlorové vápno, jen se převrstvují zeminou
- děti musí mít před odjezdem tzv. "**potvrzení o bezinfekčnosti**" (prohlášení rodičů o tom, že dítě nebylo ve styku s nakažlivou chorobou)
- při podezření na infekci musí být **možnost izolovat** postiženého
- musí být **zdokumentovány** choroby a úrazy kvůli možným následkům

## Hygiena zdravotnických zařízení

### Specifická rizika ve zdravotnictví:

- **A. Riziko infekce**
  - Riziko, **že osoba bude nakažena (vnímavost)** je pro pacienty obvykle zvýšené: jsou oproti zdravým vždy oslabení, zvláště pak na chirurgiích (otevřené rány), na ARO a JIP (těžké stavy, léčba ovlivňující imunitu). Velmi vysoké riziko je u transplantovaných osob.
  - Riziko, **že osoba někoho nakazí (nakažlivost)** bývá stejné jako mimo nemocnici; zvýšené je na infekčních odděleních, na kožních odděleních, v některých laboratořích (zde riziko pro personál) popř. na septických odděleních chirurgií apod.
  - Riziko vyplývající z **manipulace s infekčním materiálem** (moč, krev, stolice, ostatní materiály) - nikde jinde se s infekčním materiálem nemanipuluje tolik jako ve zdravotnictví
- **B. Další rizika**
  - Chemoterapie nádorů (cytostatika). Tyto látky jsou protinádorové, ale samy mohou nádory vyvolat.
  - RTG – radioaktivita. Rizika ultrazvuku, magnetického pole se považují za zanedbatelná, i když i o nich se diskutuje
- **C. Ostatní vlivy**
  - Významné psychologické vlivy - zvláště dětí. Hrozí riziko hospitalismu (psychického ovlivnění pobytem v nemocnici). U dětí je nutno podle možností umožnit přítomnost matky s dítětem v nemocnici.

### Choroby z povolání u zdravotníků (jsou-li uznány, dostane nemocný pracovník finanční částku)

A. **Infekční:** především virová žloutenka B, ale i AIDS, v poslední době pozor také na tuberkulózu!

B. **Radiační** (u rentgenu) a choroby plynoucí z práce s **cytostatiky** (protinádorovými léky)

### Prevence chorob z povolání

A. **Rizikové prohlídky.** Podle oboru je stanoveno, jak často, obvykle prohlídka lékařem + biochemické a serologické markery. Vždy prohlídka vstupní a výstupní, z důvodů zdravotnických i právních. U práce s RTG a cytostatiky se dělá také chromozomální vyšetření.

B. **Dodržování bezpečnostních opatření** při práci s rentgenem, cytostatiky a hlavně infekčním materiálem: práce s jehlami, rukavice apod. - viz dále

C. **Očkování** proti virové žloutence B - pozor! není absolutně spolehlivé, neznamená, že kdo je očkován, nemusí dodržovat zásady bezpečné práce s infekčním materiálem!

### Bariérové cesty prevence

A. **Osobní ochranné pomůcky**, tj. pláště, rukavice, čepice apod., u rtg např. olovené zástěry (oddělují osobu v riziku od rizikového prostředí)

B. **Stavební a jiné bariéry** - např. box pro práci s cytostatiky, olovo ve skle na rtg

Správně používat! Například používám-li plášť pro ochranu před infekcí a zpracovávám v něm infekční materiál, nemohu v něm zároveň jíst. Chráním-li si ruce rukavicemi, musím si je vyměnit, když se protrhnou.

## **Ochrana pacienta**

je stejně důležitá, ne-li důležitější, než ochrana samotného pracovníka. Často obojímu může sloužit jedna věc. Například máte-li roušku na ústech, nenakazíte se vy od pacienta, ani on od vás. U rukavic je důležitá jejich výměna mezi pacienty; tam, kde se rukavice nepoužívají, je nutné umytí rukou. V ambulancích se používá posunující se papír, který je třeba posunout po každém pacientovi.

## **Některé praktické zásady**

- **Oddělení manipulace** se sterilním materiálem (infúzní roztoky, injekce, sterilní nástroje) od nesterilní manipulace a především od manipulace s biologickými materiály (krví, močí, tělními tekutinami, stolicí apod.). To se týká pracovních ploch v sesterně, výtahů, prádla apod.
- **Sundávání jehel ze stříkaček.** Proto je to také vyhláškou zakázáno a jehla i se stříkačkou se musí společně vyhodit do takové nádoby, která je nepropustná a má pevné stěny, které jehla nepropíchne. Výjimkou jsou oddělení, kde mají na sundávání jehel ze stříkačky speciální zařízení.
- Kvůli rezistenci je potřeba pravidelně **střídat desinfekční prostředky**, obvykle se každý den v týdnu použije něco jiného

## **Některé zásady pro laboratoře**

- neotvírat zbytečně zkumavky a misky, otevřít jen na nezbytnou dobu
- každý vzorek od pacienta považovat za potenciálně infekční
- pracovat obvykle v rukavicích, po práci desinfekce rukou
- při žhání mikrobiolog. klíčky nejprve materiál vysušit a pak teprve spálit

## **Hygiena práce**

V pracovním prostředí působí na člověka různé vnější vlivy podobně, jako na ulici nebo doma. Rozdíl je v tom, že

- tyto vlivy bývají často intenzivnější a často také jednostranné (jednotvárné svalové zatížení, působení jedné chemické látky apod.).
- na druhé straně je člověk nezažívá pořádkem, ale jen v pracovní době.
- může se "bránit" tím, že změní zaměstnání.

Proto obvykle vyhlášky připouštějí mnohem vyšší koncentrace škodlivin, hluk, teploty apod. pro pracovní prostředí než pro mimopracovní oblast.

Některé vlivy ⇒ choroby z povolání. Aby k tomu docházelo co nejméně:

- dodržovat zásady bezpečnosti práce včetně přestávek apod.
- používání ochranných pomůcek.

Pokud přesto k onemocnění dojde, jde o nemoc z povolání (zaměstnavatel 1. hradí léčení a 2. proplácí zaměstnanci určitou částku)

## **příklady některých nemocí z povolání**

- **Choroby způsobené mechanickými vlivy**
  - Jednostranné nadměrné dlouhodobé zatížení - příklad nemoci způsobené mechanickým vlivem. V různých prům. provozech. Pro uznání musí být splněna tři kritéria: musí se jednat o skutečně jednostranný pohyb, který pracovník dělá dlouhodobě a je přitom zatížen nadměrně.
  - Syndrom karpálního tunelu u těch, kt. se opírají předloktím o podložku

- Poškození **fyzikálními vlivy**: hlukem, teplem, vibracemi, dále též:
  - Poškození zraku u svářečů nebo u těch, kteří pracují s laserem
  - Poškození zdraví ozářením - kancerogenní (rakovinotvorný), popř. teratogenní (potomstvo poškozující) efekt. Pracovníci v riziku se podrobují pravidelnému vyšetření svých chromozómů
- Poškození zdraví **chemickými škodlivinami** - nejen v chemickém průmyslu, ale i ve strojírenství, textilním průmyslu i jinde včetně zdravotnictví.
  - Toxické - chemikálie působí přímo jako jed
  - Kancerogenní a teratogenní
  - Alergie, např. i na určitý kov nebo třeba na useň rukavice.
- **Infekce**, např.:
  - virová žloutenka u zdravotníků
  - leptospiróza u pracovníků kanalizací
  - klíšťová encefalitida u lesních dělníků
  - různé zoonózy u pracovníků v zemědělství (leptospiróza, tularémie)

*Kapavka u prostitutek? U nás nejsou tyto dámy oficiálně povoleny a registrovány, takže jim ani nelze uznat chorobu z povolání.*

# Epidemiologie

## Základní pojmy epidemiologie

Epidemiologie (přesněji řečeno, infekční epidemiologie) se zabývá obecnými zákonitostmi, které se týkají přenosu nález, a pojmů, které s tím souvisí. Je bezpodmínečně nutné znát následující pojmy a neplést si je.

### Zdroj nález

Zdrojem nález může být buď člověk, nebo zvíře. V některých případech lze za zdroj nález považovat vnější prostředí, zejména u bakterií, které v tomto prostředí normálně žijí a člověka napadají spíše náhodně (gramnegativní nefermentující tyčinky). Je potřeba rozlišovat pojmy **zdroj** a **přenašeč**. Například u moru je zdrojem krysa, kdežto přenašečem morová blecha.

### Cesta přenosu nález

Cesta přenosu nález je vlastně způsob, jak se mikroby dostanou ze zdroje na nakaženou osobu.

Některé učebnice dělí cesty přenosu na přímé (zdroj a nakažená osoba jsou v těsném kontaktu) a nepřímé (mezi zdrojem a nakaženou osobou je vzduch, potravinové vehikulum, hmyzí přenašeč a podobně). Ne vždy lze ovšem oboje oddělit.

Jednotlivé cesty přenosu jsou znázorněny na obrázku a podrobněji budou probrány dále.

### Ohnisko nález

To je místo, kde se vyskytla choroba. Například: byt, závodní jídelna, cukrárna, les. Je-li to les či jiné přírodní území, hovoříme o přírodní ohniskovosti nález. To se týká zejména některých zoonóz - tedy nález přenášených ze zvířat na lidi. Tak třeba klíšťová encefalitida normálně postihuje hlavně lesní hlodavce.

### Průběh nález a vnímavý jedinec.

- **Inaparentní infekce** = asymptomatická = bezpříznaková. Trvalá inaparentní inf. nebo inf., kde zmizely příznaky, ale mikroby přetrvávají, se označuje jako **nosičství**.
- **Aparentní infekce** je naopak ta, která má příznaky.

- Doba od infekce (nakažení) do propukn. choroby = **inkubační doba.**
- **Recidiva** infekce je nové propuknutí infekce
- **Relaps** znamená - na rozdíl od reinfekce - že původní infekce ještě nepřestala a už se objevila nová vlna (zhoršení stavu pacienta)
- **Superinfekce** je případ, kdy existuje infekce mikroblem X a najednou se k tomu přidá mikrob Y.
- **Koinfekce** znamená, že k infekci mikroby X i Y došlo najednou

**Vnímavost jedince** je podmínkou vzniku infekce. Je dána stavem jeho imunity, tím, jestli byl očkován, a podobně. Dá se říct, že na vzniku infekce se podílí 1) stav mikroorganismu (jak moc agresivní čili virulentní je daný kmen mikroba) a 2) stav makroorganismu čili nakazivšího se člověka (= vnímavost).

### Formy epidemického procesu

Sporadické onemocnění: infekce se vyskytne tu a tam.

Epidemický výskyt: infekce se vyskytla zvýšenou měrou na jednom místě v určitém čase (třeba epidemický výskyt salmonelózy u návštěvníků jedné cukrárny)

Epidemie: větší epidemický výskyt (třeba epidemie chřipky v jihomoravském kraji)

Pandemie: celosvětová epidemie.

Endemický výskyt: dlouhodobý místně omezený výskyt v určitém místě.

### Hlášení infekcí

Epidemiologům jsou mikrobiologickými. laboratořemi i klinickými lékaři hlášeny všechny závažné infekce. U některých epidemiologové pouze ověří, že je hlášení v pořádku (tj. opravdu jde o danou diagnózu) a zaznamenají počet infekcí za určité období - to se týká třeba nemocí, proti kterým se očkuje. V případě, že by jejich počet v celostátním měřítku výrazně stoupl, muselo by se uvažovat o změně očkovací látky nebo kalendáře (viz Očkování). U jiných nemocí dělá epidemiolog konkrétní opatření. Jsou to zejména takové nemoci, které jsou jednak velice závažné a nakažlivé, jednak lze provést taková opatření, která šíření nemoci výrazně omezí. (Nemá velký smysl dělat opatření třeba u málo závažných nálezů přenášených vzduchem - mikrob by si stejně cestu našel a opatření by byla neúčinná). Nejčastěji se provádějí opatření u střevních nálezů, popř. u nálezů přenášených krví a pohlavní cestou (např. virová žloutenka B); u závažných vzdušných nálezů také, ale efekt bývá menší.

### Opatření při ojedinělém výskytu

Dozví-li se epidemiolog z hlášení o infekci, provede takzvanou DEPISTÁŽ, tzn. že epidemiolog zaj(e)de do ohniska infekce, nebo naopak jsou nakažení pozváni na hyg. stanici, popř. vyzváni k tomu, aby tam zatelefonovali.

3. "Směrem zpátky": Zjišťuje se, jaký byl zdroj, popř. vehikulum infekce (a nejde-li o počátek epidemického výskytu)

4. "Směrem dopředu": Zjišťuje se, jestli nakažený člověk s sebou nese riziko, že nemoc přenesou ještě na někoho dalšího (např. když je v rodině malé dítě nebo potravinář).

Zjistí-li se závažné skutečnosti, provádí se vlastní opatření. To mívá právně závaznou formu tzv. rozhodnutí. Rozhodnutí může omezit některé aktivity nakaženého (včetně pracovních, zejm. v potravinářství apod.), nařídí povinné vyšetření členů rodiny (nakažený již obvykle vyšetřen je) apod.

### Opatření při epidemickém výskytu

O epidemickém výskytu se epidemiolog dozví, pokud mu jej nahlásí obvodní či závodní lékař, ředitel školy či školky či jiná zodpovědná osoba; v některých případech se hlášení účastní i mikrobiologická laboratoř, která zaznamená zvýšený výskyt určitého patogenu z určité lokality (nebo z určitého oddělení nemocničního zařízení - v tom případě se jedná o nozokomiální infekci, viz dále).

Druhá možnost je, že na epidemický charakter nemoci epidemiolog narazí porovnáním údajů z depistáží (např. všichni udávají konzumaci zákusků v jedné cukrárně).

V každém případě epidemiologové obvykle vyšetří tzv. exponované osoby (u střevních nákaz jsou to ti, kteří jedli jídlo, které pravděpodobně vyvolalo epidemický výskyt) s cílem upřesnit počet nakažených a najít případné bezpříznakové (avšak nakažlivé) případy. Jejich kolegové z hygienických oborů zkontrolují dodržování zásad hygieny. Jedni, druzí nebo společně pak mohou udělit pokuty, učinit opatření včetně např. uzavření zařízení (jidelny apod.) a kontrolují situaci, dokud ohnisko nákazy nevyhasne, tj. dokud nejsou u všech postižených opakovaně negativní lab. nálezy příslušného mikroba.

### **Epidemiologická surveillance**

je pojem z francouzštiny. Označuje "bdělost" - stálý dohled státní správy (u nás především prostřednictvím epidemiologů hygienických stanic) nad počty a způsoby šíření nakažlivých nemocí. Týká se jak konkrétních opatření v ohnisku, tak také celkového sledování vývoje počtu případů určitých nemocí. Toto sledování může pak vést k rozhodnutí např. zavést nebo zrušit určité očkování či pozměnit věk, kdy se očkuje. Nebo se na základě těchto výsledků vedení zdravotní politiky ve státě (tj. obvykle ministerstvo zdravotnictví a jím vytvořené úřady) rozhodne uspořádat kampaň prostřednictvím tisku a reklamy.

### **Epidemiologie na celosvětové úrovni**

je řízena Světovou zdravotnickou organizací (WHO). Ta vydává doporučení ohledně očkování a vůbec přístupu k různým nemocem. Důležité jsou ERADIKAČNÍ PROGRAMY, kde jde o to vykořenit některé nebezpečné (a zároveň ovšem vymýtitelné) nemoci (z latiny e- znamená ven, radix = kořen). To se podařilo celosvětově například u pravých neštovic. U dětské obrny se eradikace daří v rámci některých států. Eradikaci je potřeba kontrolovat, například u nás se musí hlásit (a různými vyšetřeními prověřovat) každé onemocnění tzv. chabou obrnou, aby se ověřilo, nejde-li náhodou o dětskou obrnu (přestože ta se již po léta nevyskytuje).

## **Nákazy podle jednotlivých cest přenosu**

### **Vzdušné nákazy (+ kontakt přes předměty)**

Nejde zdaleka jen o dýchací infekce. Vzdušnou cestou se přenáší také např. většina běžných dětských nemocí a také závažné infekce, např. meningokokový zánět mozkových blan. U všech těchto infekcí se uplatňuje jako riziko velká koncentrace osob na malé ploše (školy, ale ještě více velké internáty, kasárna apod.). Opatření u jednotlivých případů nebývají tak účinná jako např. u střevních infekcí, přesto se v některých případech provádějí, např. karanténní opatření u dětí navštěvujících školku, preventivní podávání antibiotik u zánětu mozkových blan apod. U větších epidemických výskytů (např. chřipky) připadá v úvahu omezení školní docházky a většího shromažďování lidí (kina, divadla apod.). Pomocí předcházet méně závažným, zejména dýchacím nákazám, mohou i např. rodiče, pokud nebudou posílat do školky nedoléčené děti.

Vlastní mechanismus může být přenos infekce vzduchem jako takovým, ale zejména u dýchacích onemocnění také neviditelnými kapénkami (KAPÉNKOVÁ INFEKCE), viditelnými kapkami (při kašli a kýčání - TOMUTO SE NEŘÍKÁ KAPÉNKOVÁ INFEKCE), a může se kombinovat s přenosem dotykem (kašlání do dlaně - klika - dlaň jiného člověka). Co z toho je u dané nákazy nejdůležitější a co méně významné lze většinou těžko říci.

### **Alimentární a jiné fekálně orální nákazy**

ALIMENTÁRNÍ = přenášený přes vehikulum - potravinu (podmnožina fekálně orálních)

FEKÁLNĚ ORÁLNÍ = přenášený jakkoli ze stolice do úst (jídlo, prsty, hmyz...)

- "Nemoci špinavých rukou" - méně potravou, více rukama (úplavice, žlou. A)
- Jiné jsou méně nakažlivé, převážně alimentární (salmonelóza)

Zdrojem je u některých výhradně lidská stolice (či řitní otvor), u jiných i zvířecí. Nejen průjmy, ale i dětská obrnna, břišní tyfus, žloutenka typu A a E. Zvláštním případem jsou roupy, kdy se dítě samo znovu nakažuje tím, že se škrábe kolem řiti a pak strká prsty do úst.

Díky hygieně apod. většina z nich ubývá. Výjimkou je např. salmonelóza, naopak přibývá. (Snad jde o změnu zemědělství - velkodrůbežárny). Naproti tomu u úplavice četnost klesla (lepší kontrola zdrojů vody - časté příčiny epidemií). Žloutenka A se vyskytuje u lidí, kteří přicestovali ze zahraničí a v rodinách s nižší úrovní hygieny (většinou romských). Žloutenka E je méně běžná, ale je jí asi víc než se zdá - diagnostika se teprve rozbíhá.

Fekálně orální přenos se často kombinuje s přenosem přes zvířata. Týká se to vlastně i salmonelózy, ale také toxoplasmózy (nakažená kočka - trus - pískoviště - dětské ruce - ústa) apod.

### **Zoonózy (nemoci, jejichž zdrojem je zvíře)**

**Zoonózy** jsou infekční nemoci zvířat. **Antropozoonózy** jsou ty z nich, které se mohou přenášet i na člověka, v lidské medicíně se ale i v takovém případě obvykle hovoří o **zoonózách**. U některých zoonóz je zvíře jediným přenašečem, u jiných je možný (byť méně častý) i přenos mezi lidmi. Nejdůležitější jsou:

- **Vzteklina:** Je to choroba v rozvinutém stádiu neléčitelná, přenášená liškami, psy, ale i kočkami a jinými zvířaty. Při pokousání neznámým zvířetem je nutné očkování. Nyní již ale není tak bolestivé, jako v minulosti.
- **Leptospiróza:** žňová horečka, získaná z hlodavců a TULARÉMIE - zaječí mor. U tularémie jsou v nebezpečí ti, kteří stahují a porcují zajíce, ale také např. cukrovarníci a zemědělci, kteří vdechují prach ze slámy nebo cukrové řepy, ve které žijí hraboši. Patří sem také řada parazitárních chorob.
- **Toxoplasmóza:** původce žije se pohlavně množí ve střevě kočky. Může se ale vyskytovat také v nedovařeném mase. Cesta přenosu bývá alimentární, ale také kontaktem s půdou (pískem) znečištěnou výkaly koček, nebo se zvířaty (pozor - kočičí srst je většinou čistá, zato psi se rádi válejí v blátě!).
- **Tasemnice** se přenášejí potravní cestou z mezipřenašeče, kterým podle druhu tasemnice může být kráva nebo vepř.

PREVENCE ZOONÓZ: nedotýkat se neznámých zvířat, zvláště chová-li se netypicky. Zabránit přístupu hlodavců k potravinám. Nenechat zvířata kálet na pískovištích a v místech her dětí.

### **Infekce přenášené hmyzem**

- **Pasivní přenos:** Hmyz náhodným přenašečem infekcí, zejm. alimentárních
  - **Aktivní přenos:** Některé druhy hmyzu jsou specializovány k přenášení určitých infekcí. Mikroby v těle hmyzu prodělávají část vývoje. Např. spavá nemoc (moucha tse-tse), malárie (komár Anopheles), žlutá zimnice (komár Aedes). U nás téměř výhradně klíšťata, která přenášejí:
5. Lymeskou boreliózu. Bakteriální onemocnění, nedá se proti ní očkovat, ale dá se léčit antibiotiky. Projev se stěhujícími se červenými skvrnami.
  6. Klíšťový zánět mozku (encefalitidu). Virové onemocnění, nedá se léčit antibiotiky, ale dá se očkovat. Očkování se skládá ze tří dávek.

(Nezapomínejme ovšem, že i klíšťata se mohou podílet na pasivním přenosu)

Ostatní hmyz (včetně našich komárů) se podílí jen na pasivním přenosu.

### **Přenos z matky na dítě**

se uplatňuje u některých vrozených infekcí (včetně AIDS)

## Nemoci přenášené krví

- Nemoci, způsobené málo odolnými mikroby
- Většina těchto nemocí se zároveň může přenášet i pohlavně (viz dále)
- U zdravotníků je zvýšené riziko těchto nemocí (manipulace s krví, s jehlami)
- Patří sem virové žloutenky B, C a D (i žl. C přibývá!) a infekce HIV/AIDS.
  - Narkomani (půjčování jehel)
  - Zdravotnictví (nedodržení zásad manipulace s jehlami apod.)

## Nemoci přenášené dotykem sliznic

7. **Místní infekce** - postiženy sliznice, přes něž se přenášejí (opary, kapavka)
8. **Infekce postihující celé tělo** (AIDS, žloutenka B - zpravidla přenos i krví)
  - Opary, některé kožní infekce (houbové): přenos i sliznicí rtů při líbání
  - Ostatní - pohlavně přenosné nákazy (ang. Sexually Transmitted Disease - celosvětově se používá zkratka STD. Sem patří nejen pohlavní nemoci.

**Virové žloutenky B, C, D.** Pohlavní přenos je stejně důležitý jako přenos krví.

**HIV/AIDS.** Přenos častější je tam, kde jsou (třeba neviditelné) trhlinky, např. při styku do řiti. (Sliznice řiti je méně odolná). Ale i pohlavní styk do úst je rizikový. Spolehlivou ochranou jen pohlavní zdrženlivost. Ne každý je jí schopen, pak je třeba doporučit alespoň dodržení tzv. pravidel bezpečnějšího (, *nikoli bezpečného!*) sexu.

**Klasické pohlavní nemoci:** kapavka, syfilis, v tropech i měkký vřed aj. Stále se hojně vyskytují, a to i v Brně a okolí

**Nemoci pohlavních orgánů,** u nichž není pohlavní cesta přenosu jediná možná: kvasinkové infekce, mykoplazmata, chlamydie, papilomaviry. U některých není pohlavní cesta jediná, ale převažuje: trichomonády, muňky.

## Nozokomiální nákazy

- Bez ohledu na cestu přenosu sem patří všechny infekce vzniklé ve zdravotnickém zařízení.
- Původci bývají často bakterie či kvasinky, které žijí ve vnějším prostředí a zdravé osoby téměř nenapadají. Zato na pacienty, oslabené základní chorobou, si "troufnou". Zpravidla jsou to kmeny, které dlouhodobě přežívají v prostředí a bývají rezistentní na desinfekční činidla i na antibiotika.
- Nozokomiálně se ale mohou přenášet i např. virové žloutenky nebo AIDS (při hrubém porušení pracovního postupu).

K šíření těchto nákaz přispívá:

- **Nesprávná dekontaminace nástrojů** (například chybí mechanická očista před sterilizací, nebo je sterilizace provedena nesprávným postupem). Takto se může šířit např. i hepatitida B nebo C.
- **Závady v ošetrovatelské technice** a hygieně personálu (např. rukavice)
- **Závady v hygienickém režimu pracoviště** (neoddělování špinavého a čistého prádla apod.)
- **Nesprávné používání dekontaminačních metod** u pracovních ploch, podlah apod., například nestřídání desinfekčních prostředků
- **Nadměrné užívání antibiotik** (třeba u virových infekcí)
- **Užívání antibiotik naslepo** bez ověření citlivosti
- **Nevhodné (příliš nízké) dávky antibiotik (neléčí, zato vyvolávají rezistenci)**

# SPECIÁLNÍ BAKTERIOLOGIE

## GRAMPOZITIVNÍ KOKY

### Staphylococcus

Patří mezi nejvýznamnější klinicky významné grampozitivní koky.

#### Vlastnosti a přenos

Stafylokoky jsou velmi odolní bakterie. Vydrží dlouhodobé vyschnutí a dobře snášejí i zvýšené koncentrace chloridu sodného. To souvisí s tím, že žijí na kůži, včetně kůže zpoceně. Přenášejí se snadno vzduchem a ještě snadněji kontaktem.

#### Význam a rozdělení

**S. aureus** (zlatý stafylokok) je v malém množství součástí běžné flóry na kůži a ve vnější části nosní dutiny. Je však také původcem hnisavých infekcí kůže, dýchacích cest i jiných orgánových soustav. Stafylokokové záněty kůže se označují různými názvy jako furunkl, karbunkl, na oku ječné zrno. Z dýchacích cest postihuje hlavně nosní dutinu, přinosní dutiny a případně hltan; zápal plic dělá zřídka. Záněty hlubokých tkání mají charakter abscesů (jsou to opouzdřené procesy, které se šíří pomalu, ale zato do nich špatně pronikají antibiotika). Časté jsou sepsy, především v nemocnicích. Některé kmeny produkují různé druhy toxinů - ty pak mohou způsobovat i další onemocnění. Stafylokokové enterotoxikózy vlastně nejsou infekce, ale otravy stafylokokovým toxinem. Od střevních infekcí je odlišný rychlý průběh. Typické je, že kuchařky s hnisavým zánětem na ruku přenesou bakterie do jídla. Při další tepelné úpravě jsou bakterie zničeny, ale toxin ne. Nemoci spojené s odlupováním kůže jsou další formou stafylokokové infekce, naštěstí vzácnou. U jedné jejich formy může dojít k syndromu toxického šoku a ke smrti.

**Koagulázanegativní stafylokoky** zahrnují ostatní druhy stafylokoků (jen pro zvidavé: toto tvrzení není zcela přesné, existují i koagulázapozitivní neaureové stafylokoky, ty ale nemají pro člověka téměř význam). Patří sem zejména *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* a *S. hominis*. Všechny jsou hlavní součástí běžné flóry na kůži a přilehlých místech (boltec, zevní zvukovod, rty apod.). Dříve se považovaly za nepatogenní, dnes je však mnoho případů katetrových sepsí, které postihují nemocniční pacienty. Stafylokoky přilnou k různým plastovým cévkám, umělým chlopním a jiným materiálům a s nimi se dostávají dovnitř do těla. Jedná se o obtížně léčitelné nemocniční infekce.

#### Faktory patogenity

Mezi důležité faktory patří hemolyziny. Zatímco zlatý stafylokok může tvořit čtyři typy toxinů, označené řeckými písmeny alfa, beta, gama a delta, koagulázanegativní stafylokoky tvoří pouze jeden. Protože je jeho činnost podobná delta hemolyzinu *S. aureus*, říká se mu "delta-like". Dalším zajímavým faktorem je protein A, který má schopnost vázat protilátku za opačný konec její molekuly a zabránit tak vazbě normální. Této schopnosti se využívá při koagulaci. Dalšími mohou být (ale jen u některých kmenů!) enterotoxiny, exfoliatiny a desítky dalších.

#### Diagnostika

MIKROSKOPIE. Jedná se o G+ koky ve shlucích.

KULTIVACE. Rostou na všech běžných klinickomikrobiologických půdách. Na krevním agaru tvoří *S. aureus* nazlátlé kolonie, koagulázanegativní stafylokoky kolonie bílé. U *S. aureus*, ale někdy i u ostatních, vidíme betahemolýzu. Většina koagulázanegativních kmenů je ale bez hemolýzy. Výjimečná je schopnost růstu na krevním agaru s 10 % NaCl, což je půda, která se používá jako selektivní.



BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE, ANTIGENNÍ ANALÝZA A DALŠÍ TESTY. Velice důležitý je katalázový test, který je u stafylokoků pozitivní, kdežto u streptokoků a enterokoků negativní. Když už víme, že je testovaný kmen stafylokok, je důležité odlišit zlatého stafylokok od ostatních. K tomu slouží plasmakoagulázový test, kdy se ve zkumavce smíchá kolonie stafylokok s králičí plasmou. Do druhého dne se v pozitivním případě (u *S. aureus*) stane z tekuté plasmu "želé". Lze také provést clumping factor test, kdy se stafylokok s králičí plasmou smíchá na sklíčku a u pozitivního dojde k aglutinaci (vznikají vločky). Moderní aglutinační testy jsou mnohem spolehlivější než klasický clumping factor, protože využívají reakce s více antigeny. Hyaluronidázový test využívá opozdřeného kmene *Streptococcus equi*. Ten má normálně hlenovité kolonie, ale v přítomnosti zlatého stafylokok - ne však koagulázanegativních - hlenovitost ztrácí. - Někdy chceme určit přesně druh koagulázanegativního stafylokok. V tom případě použijeme biochemický test v panelu, v českých podmínkách nejčastěji StaphyTest 16.

NEPŘÍMÝ PRŮKAZ se nevyužívá.

### Léčba a prevence

Používají se antibiotika, především oxacilin, cefalosporiny a makrolidy. Koagulázanegativní druhy bývají rezistentnější, *S. aureus* citlivější. Velkým problémem dneška jsou však kmeny označované jako MRSA (meticilin rezistentní *S. aureus*). Ty jsou rezistentní na oxacilin (meticilin a oxacilin je skoro totéž, jenže meticilin se používá v západní Evropě a oxacilin u nás) a na další antibiotika. U takových kmenů pomáhá vankomycin. - U chronických infekcí někdy antibiotika nezabírají. Pak se používají autovakcíny a jiná imunologická léčba. - U hnisavých abscesů je základem léčby chirurgické otevření a vyčištění hnisavého ložiska.

### Micrococcus, Kocuria aj.

Na rozdíl od stafylokoků jsou mikrokoky, kocurie aj. striktně aerobní. Vyskytují se v prostředí a občas kontaminují misky. Jsou prakticky nepatogenní. Kocurie jsou pojmenovány po profesoru Kocurovi z brněnské sbírky mikroorganismů. - Některé produkují barvné pigmenty.

### Streptococcus

Vedle stafylokoků patří streptokoky mezi nejvýznamnější G+ koky.

### Vlastnosti a přenos

Stafylokoky jsou oproti stafylokokům méně odolné, hůře snášejí změny koncentrace solí a podobně. I přesto se však běžně přenášejí vzduchem a kontaktem. - Některé streptokoky jsou čistě lidské, některé jiné mohou napadat i zvířata.

### Význam a rozdělení

#### ALFA-HEMOLYTICKÉ STREPTOKOKY

***S. pneumoniae*** (pneumokok) je v malém množství součástí běžné flóry v krku. Je však také původcem různých nemocí, hlavně dýchacích cest. Záněty nosní dutiny a sinusitidy (záněty přínosných dutin) jsou značně nepříjemné. Zápaly plic (záněty plic, pneumonie) jsou také závažné, stejně jako záněty středního ucha. Nejhorší jsou ale záněty mozkových blan (meningitidy) a sepsy (vlastně zánět krevního řečiště). Postihují zejména starší lidi. Často se vyskytují u lidí, kterým byla odstraněna slezina nebo kteří mají nějakou poruchu její funkce.

**"Viridující" streptokoky** zahrnují ostatní druhy streptokoků s alfahemolýzou. Název je odvozen právě od alfahemolýzy, která je zelená (latinsky viridis = zelený). Tyto streptokoky jsou mnohem méně virulentní. Normálně tvoří jednu z hlavních součástí běžné flóry v dutině ústní a v hltanu. Odtud se mohou dostat do krve především při zubních kazech a zánětech v ústech. Normálně se s nimi tělo vypořádá, ale běda, pokud se setkají s nitroblánou srdeční, která je

někdy postižena (třeba revmatickou horečkou). V takovém případě vznikne pomalá endokarditida neboli pomalá sepse. Je to vleklé a závažné onemocnění.

#### **BETA-HEMOLYTICKÉ STREPTOKOKY**

**S. pyogenes** (také "streptokok skupiny A") je nejhorší ze všech streptokoků vůbec, i když i on bývá někdy nalézán i u lidí zcela zdravých. Angíny (tonsilitidy) i spála často postihují zejména děti. V obou případech jsou hnisavé a zvětšené mandle; u spály se navíc odlupuje kůže. Růže (erysipel) je také kožní onemocnění; na rozdíl od spály však postihuje starší osoby. Ve tkáních streptokoky působí obvykle neopouzdřené flegmóny (na rozdíl od opouzdřených abscesů u stafylokoků). *S. pyogenes* ale může škodit i ve chvíli, kdy už v těle vlastně vůbec není (mluví se o takzvaných pozdních následcích). Některé streptokokové antigeny jsou totiž podobné některým lidským antigenům, a tak se může stát, že protistreptokokové protilátky se omylem vážou na lidské struktury místo na streptokoky - vzniká vlastně autoimunitní choroba. Takovou lidskou strukturou může být nitroblána srdeční - pak vzniká revmatická horečka. Nebo jsou to ledvinná klubička (glomeruly) a pak vzniká glomerulonefritida. - *S. pyogenes* je čistě lidským patogenem.

**S. agalactiae** (také "streptokok skupiny B") je dalším výrazným patogenem v této skupině. Zaměřuje se ale spíše na jiné orgány. Močové infekce jsou poměrně časté. Přítomnost tohoto mikroba v pochvě nemusí znamenat nemoc, časté je i bezpříznakové nosičství. I v takovém případě ale může být streptokok nebezpečný - může totiž dojít k infekci novorozence při porodu. - Zajímavé je, že tento mikrob postihuje i mnohá zvířata, a u každého dělá jiný typ zánětů. Například u hovězího dobytka způsobuje záněty mléčné žlázy - od toho získal název (*agalactiae*, tedy bez-mléčný, od řeckého galaktos = mléko, např. galaxie = mléčná dráha).

**Non-A-non-B streptokoky** zahrnují ostatní druhy streptokoků s betahemolýzou. Nacházíme je jako občasné patogeny dýchacích cest. Nejčastěji způsobují různé záněty hltanu, případně i pravé angíny.

#### **GAMA-HEMOLYTICKÉ STREPTOKOKY**

Není mezi nimi žádný výrazný druh. Nacházíme je občas v dýchacích cestách (kde více méně neškodí), někdy také v ranách (kde se mohou uplatnit jako patogeny).

### **Faktory patogenity**

**U všech** se uplatňují složky buněčné stěny, například kyselina teichoová. Často také působí hemoliziny. Mnohé další faktory jsou vázány na určité druhy streptokoků

**Streptococcus pneumoniae** je patogenní především díky svému pouzdru. To brání fagocytóze. Přesto pneumokok může být fagocytován, je-li opsonizován (viz termín "opsonizace" v textu z imunologie).

**Streptococcus pyogenes** tvoří protein M. U spály a růže je tvořen erytrogenní toxin. Významné jsou streptoliziny O a S. Jsou to právě protilátky proti streptolyzinu O, které mohou vést k revmatické horečce nebo glomerulonefritidě. - Streptoliziny i některé další faktory mohou rozkládat tkáň. Někdy je získá streptokok tak, že je napaden bakteriofágem. Před časem byl kmen s vysokou produkcí takových toxinů příčinou velmi rychle smrtících flegmón v Británii, přičemž noviny psaly o "masožravém streptokokovi".

### **Diagnostika**

**MIKROSKOPIE**. Jedná se o G+ koky v řetízích. Výjimkou je pneumokok, který tvoří dvojice charakteristického tvaru (buňky nejsou přesně kulaté, ale lehce do špičky, a špičky směřují na opačné strany).

**KULTIVACE**. Růstově jsou středně náročné - například rostou na krevním agaru, ale zato na Müller-Hintonově (MH) agaru nerostou, a proto se test citlivosti musí provádět na krevním agaru nebo MH agaru s krvinkami. Na krevním agaru tvoří drobné kolonie, téměř bezbarvé, podle typu s různými druhy hemolýzy. Trochu větší kolonie má jen *S. agalactiae*. Zvláštním případem jsou velké hlenovité kolonie, které tvoří někdy (ale jen někdy) pneumokok. Streptokoky nesnášejí zvýšené koncentrace NaCl ani žlučových solí, což je odliší od stafylokoků a enterokoků. Zato se využívá krevní agar s amikacinem. Streptokoky jsou na amikacin rezistentní, a proto na půdě

rostou. Zato stafylokoky ani gramnegativní bakterie většinou nerostou. Selektivita ovšem není dokonalá, na této půdě rostou například enterokoky nebo rezistentní pseudomonády (to jsou bakterie, o kterých se teprve budeme učit).

**BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE, ANTIGENNÍ ANALÝZA A DALŠÍ TESTY.** Od stafylokoků odliší streptokoky kromě kultivačních schopností i katalázový test. K odlišení od enterokoků se dá použít proužek podobný oxidázovému testu - PYR test. Ten je u streptokoků - na rozdíl od enterokoků - negativní. Jedinou výjimkou je *S. pyogenes*, toho ale za enterokoka většinou nezaměníme díky jeho drobným koloniím a výrazné hemolýze, jakou enterokoky nikdy nemají.

K rozlišení alfa-hemolytických streptokoků lze použít optochinový test, což je vlastně prachobyčejný difúzní diskový test citlivosti na antibiotikum optochin. Toto antibiotikum se nepoužívá k léčbě, zato je zajímavé tím, že pneumokoky jsou na ně vždycky citlivé a viridující streptokoky vždycky odolné. Používá se také tzv. test rozpustnosti ve žluči - kolonie pneumokoka se po posypání práškovou žlučí rozpadají, kdežto kolonie viridujících streptokoků nikoli. Spíše historický význam má dnes test patogenity pro myš, kde smrt myši znamenala, že jde o pneumokoka. - Pokud potřebujeme rozlišit viridující streptokoky navzájem, děláme to biochemicky, např. StreptoTestem 16. (Pro betahemolytické streptokoky se biochemické určování příliš nehodí, jsou totiž biochemicky málo aktivní).

K rozlišení betahemolytických streptokoků se dá použít kombinace několika testů. Jak již bylo řečeno, PYR test je pozitivní u *S. pyogenes*. Stejně tak je pozitivní bacitracinový test (je to obdoba testu optochinového; rozdíl je v tom, že bacitracin je antibiotikum využívané i v léčbě - spolu s neomycinem je součástí framykoinu). K odlišení *S. agalactiae* se používá tzv. CAMP test - je to test hemolytického synergismu s určitým kmenem *S. aureus*. V místě křížení stafylokoků a testovaného kmene vznikne v pozitivním případě zesílená hemolýza ve tvaru motýlích křídel. Aglutinační testy dovedou rozlišit i jednotlivé antigenní typy non-A-non-B streptokoků. Nejčastější jsou antigenní typy C, E, F, G a H.

**NEPŘÍMÝ PRŮKAZ** se používá prakticky jen v diagnostice pozdních následků. Používá se neutralizační reakce, kterou se prokazuje antistreptolysin O (zkráceně ASLO), což je protilátka proti streptolysinu O. (Viz druhý ročník, kapitola o neutralizaci).

## Léčba a prevence

Používají se antibiotika, streptokoky (na rozdíl od většiny ostatních bakterií) bývají ještě většinou citlivé na klasický penicilin, tedy vůbec nejstarší antibiotikum. V případě rezistence nebo alergie se používá například cefalotin, erytromycin, azitromycin nebo tetracyklin.

Lidé, u kterých je zvýšené riziko pneumokokové infekce, mohou být očkováni. Zato u *S. pyogenes* se očkovat nesmí, nesmí se ani vyrábět autovakcíny. Důvodem je, že protilátky vytvořené při očkování by mohly vést ke vzniku pozdních následků.

## Enterococcus

### Vlastnosti a přenos

Jsou odolné - ani ne tak vůči vnějšímu prostředí (NaCl snášejí, ale ne tolik jako stafylokoky) jako hlavně vůči prostředí ve střevě (snášejí vysoké koncentrace žlučových solí). Přenos může být fekálně orální, časté jsou endogenní infekce (zdroj je totožný s nakaženou osobou).

### Význam, rozdělení a faktory patogenity

***E. faecalis*, *E. faecium*** i ostatní enterokoky se vzájemně příliš neliší (snad se dá říci, že první dělá trochu horší infekce a druhý je zase trochu rezistentnější na antibiotika). Enterokoky jsou běžnou flórou ve střevě (odtud jejich název). Záněty močových a pohlavních cest jsou nejčastějším projevem enterokokové infekce, což je dáno tím, že ze střeva to tam není daleko. Mohou ale být čas od času nalézány i jako původci infekcí dýchacích cest, popřípadě původci sepsí.

Hlavním faktorem patogenity je kyselina teichoová buněčné stěny

## Diagnostika

MIKROSKOPIE. Jedná se o G+ koky v krátkých řetězcích či dvojicích.

KULTIVACE. Rostou na všech běžných klinikomikrobiologických půdách (včetně MH). Na krevním agaru bývají nejčastěji bez hemolýzy, méně často s alfa, výjimečně s betahemolýzou. Kolonie jsou bezbarvé jako u streptokoků, ale velikost odpovídá spíše stafylokokům (nebo *Streptococcus agalactiae*). Používá se Slanetz-Bartleyho (SB) půda nebo půda žlučeskulinová, což jsou v obou případech selektivnědiagnostické půdy. Vlastně by na nich měly růst jen enterokoky, ale protože se občas najde odolný kmen např. stafylokoka, jsou v půdě kromě žlučových solí i další látky, které zapříčiňují typický vzhled kolonií enterokoků (a právě jen enterokoků): na SB půdě hnědorezavé, na žlučeskulinové půdě černé kolonie.

BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE. Katalázový test je negativní, PYR test pozitivní. K vzájemnému rozlišení enterokoků se používá arabinózový test, kdy se do zkumavky dá cukr arabinóza a zelený indikátor. *E. faecium* arabinózu štěpí: zkumavka zežloutne. *E. faecalis* neštěpí: zkumavka zůstává zelená. Lze použít i biochemický test v panelu, v českých podmínkách nejčastěji EncoccusTest16.

OSTATNÍ DRUHY METOD se nevyužívají.

## Léčba a prevence

Používají se antibiotika, přičemž je potřeba vyhýbat se cefalosporinům: všechny enterokoky jsou na ně primárně rezistentní. *E. faecium* je primárně rezistentní i na některá další antibiotika, například ampicilin. Používá se například ofloxacin, kotrimoxazol, u rezistentních kmenů vankomycin.

# GRAMNEGATIVNÍ KOKY

## Neisseria

Patří mezi nejvýznamnější klinicky významné gramnegativní koky.

### Vlastnosti, přenos a rozdělení

***Neisseria gonorrhoeae*** (gonokok) je nejchoulostivější z neisserií. Špatně snáší změny teploty a vlhkosti. Přenáší se jenom pohlavně, kultivovat se dá jen na bohatých půdách.

***Neisseria meningitidis*** (meningokok) je méně choulostivá bakterie. Přenáší se na krátké vzdálenosti i vzduchem (hlavně v kapénkách a kapkách). Na delší vzdálenosti se ale přenést nedokáže.

**Ústní neisserie** jsou ostatní druhy. Jsou nejodolnější, vydrží i delší dobu ve vzduchu.

### Význam jednotlivých druhů

**Gonokoky** způsobují kapavku. Kapavka je klasická pohlavní choroba, která postihuje hlavně močovou trubici a u žen děložní krček. Projevuje se většinou jako hnisavý výtok z močové trubice. Mohou se vyskytovat i v konečniku, tam ale většinou nic nedělají. Problémem může být rozeznání kapavčitého původu u zánětů hltanu.

**Meningokoky** se vyskytují v krku u asi 10 % zdravých lidí. Mohou ale také způsobovat záněty hltanu a především sepsu a záněty mozkových blan. Jsou závažné rychlým průběhem a tím, že postihují teenagery a mladé dospělé: ve čtvrtek je dvacetiletý člověk ještě úplně zdravý a v neděli už leží na pitevním stole. Je to i tím, že ze začátku jsou příznaky nespecifické (vysoké horečky a schvácenost bývají i třeba u chřipky), teprve pak se objevuje vyrážka a příznaky nervového dráždění. Ani ty nemusí být typické. - U meningokoků hrozně moc záleží na stavu

mikroba (jestli má faktory virulence) i na stavu makroorganismu (jestli je vnímavý). Riziko je náhlá fyzická námaha po dlouhé nečinnosti (mladík se tři týdny jen učí a pak stráví celou noc na diskotéce). Sliznici také oslabuje kouření, dokonce i pasivní.

**Ústní neisserie** jsou součástí běžné flóry v ústní dutině a hltanu. Výjimečně mohou způsobovat např. sepse nebo infekce ran.

### **Faktory patogenity**

Uplatňují se složky gramnegativní buněčné stěny, hlavně lipid A. U meningokoků jsou významné proteinové antigeny.

### **Diagnostika**

**ODBĚR VZORKU.** U **gonokoků** se odebírá stěr z ústí močové trubice, u žen také z krčku děložního, u obou pohlaví z řiti, na škodu není také výtěr z faryngu. U **meningokoků** se posílá mozkomíšní mok, hemokultura, případně výtěr z krku. **Ústní neisserie** najdeme jako běžnou flóru v krku (ve faryngu).

**MIKROSKOPIE.** Jedná se o G- koky. Gonokoky a meningokoky najdeme ve dvojicích (diplokoky). Koky jsou zploštělé a ve dvojici přiléhají plochou stranou k sobě, takže celá dvojice připomíná kávové zrno. Když mikroskopujeme přímo vzorek od pacienta, najdeme záplavu leukocytů a uvnitř těchto leukocytů jsou koky.

**KULTIVACE.** Gonokoky rostou jen na obohacených půdách, jako je čokoládový agar. Někdy se do něj přidávají antibiotika, aby se potlačil růst jiných bakterií. - Meningokoky rostou i na krevním agaru, obohaceném o živiny. U výtěrů z krku se používá disk s vankomycinem a kolistinem, který potlačí ostatní bakterie, tedy součásti krční flóry. - Ústní neisserie rostou i na obyčejném kravním agaru. - Kolonie všech neisserií jsou drobné, bezbarvé nebo nažloutlé.

**BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE.** Gonokoky jsou málo biochemicky aktivní, meningokoky víc a ústní neisserie nejmíc. V praxi se odlišíme NeisseriaTestem (biochemický test v panelu). - Všechny neisserie jsou kataláza a oxidáza pozitivní.

**ANTIGENNÍ ANALÝZA A DALŠÍ TESTY.** U gonokoků se antigenní analýza běžně nepoužívá. U meningokoků se zjišťuje přítomnost různých typů polysacharidových antigenů. Je to proto, že proti typům A a C se dá očkovat, proti typu B se očkovat nedá. Ostatní typy (W135, Y, Z a další) u nás nejsou běžné.

**PRÍMÝ PRŮKAZ ANTIGENU** v mozkomíšním moku má význam u meningokoků - dokáže ovšem rozeznat i antigeny pneumokoků a jiných.

**NEPRÍMÝ PRŮKAZ** se většinou nevyužívá.

### **Léčba a prevence**

Používají se antibiotika. Zabírá i penicilin, ale přibývá rezistentních kmenů. Dále pak ampicilin, ofloxacin, azitromycin.

U meningokoků se dá očkovat. Očkují se např. všichni branci, protože v kasárnách (stějně jako v internátech a na kolejích) se meningokoky snadno šíří. Pokud v kolektivu někdo onemocní invazivní infekcí, doporučuje se omezení shromažďování a fyzické aktivity.

### **Moraxella catarrhalis**

Je to bakterie, která občas působí jako patogen v dýchacích cestách, zejména u zánětů hltanu. Významný je jen tehdy, když je jí hodně - malá příměs mezi ostatní běžnou flórou nevádí.

V diagnostice se používá tzv. indoxylacetátový test. Je to diagnostický proužek, který se navlhčí a reakční ploškou přitiskne na testované kolonie. Barevná změna (modrozelené skvrny v místech, kde se reakční ploška dotkla kolonie) se projeví až asi po pěti minutách.

## Moraxella - ostatní

Moraxelly se občas vyskytují jako původci dýchacích, očních a dalších infekcí. Nejčastěji jde o záněty spojivek.

## GRAMPOZITIVNÍ TYČINKY

### Corynebacterium

Jsou to G+ tyčinky, které jsou uspořádány často do podoby "plotu" nebo "havraních křídel". *C. diphtheriae* je kyjovitě. Všechna jsou kataláza +, oxidáza -, nepohyblivé, bez pouzdra.

#### Vlastnosti

Corynebacteria jsou odolná (*C. diphtheriae* vydrží v prachu až 6 týdnů), růst. nenáročná; přenos vzduchem. *C. diphtheriae* je čistě lidský patogen.

#### Význam

**C. diphtheriae** je původcem záškrtu, onemocnění, které dříve smrtelo mnoho dětí. Projevovalo se polykacími obtížemi s horečkou, u těžší formy byly také celkové příznaky, dušnost, chraptot, modráni. Díky očkování se dnes vyskytuje výjimečně. Nebezpečné jsou jen kmeny produkující toxin. **Některá další korynebakteria**, jako *C. ulcerans*, mohou způsobovat záněty např. kůže. **Ostatní corynebacteria**, označovaná též jako "difteroidy", jsou součástí běžné flóry kůže a mohou jimi být kontaminovány vzorky např. moče apod. Velmi vzácně mohou být původci chorob u oslabených osob.

#### Faktory patogenity

Hlavním faktorem je difterický toxin. Ten je toxický pro všechny buňky, avšak obvyklé je postižení hrtanu, na jehož sliznici se tvoří pablány (pseudomembrány) a může dojít k úplnému uzávěru dýchacích cest. Méně časté, avšak velmi závažné je, pokud se ocitne velké množství toxinu v krevním oběhu. V takovém případě dochází k zánětu svaloviny srdeční, postižen bývá také nervový systém.

#### Diagnostika

MIKROSKOPIE. Vzhled nátěru se někdy přirovnává k čínskému písmu. *C. diphtheriae* je v mikroskopii pleomorfní (nepravidelně se barví).

KULTIVACE. "Difteroidy" se náhodně zachytí na běžných kultivačních půdách jako velmi drobné, bělavé kolonie; může dojít k záměně za kvasinky. *C. diphtheriae* se kultivuje obvykle na krevním agaru, do kterého se přidává teluričitan draselný, aby půda byla selektivní. Kolonie *C. diphtheriae* na této půdě jsou černé. Používají se i jiné půdy.

TEST TOXICITY (u *C. diphtheriae*) - Elekčův test. Kmen se naočkuje jako čára na agar, kolmo na něj se nanese papírek napuštěný antisérem. U toxigenního kmene se objeví šikmá precipitační linie.

#### Léčba a prevence

Záškrt se léčí specifickým antitoxinem, z antibiotik erytromycinem či penicilinem. Očkovací látka je anatoxin. Je součástí trivakcíny spolu s tetanickým anatoxinem a pertusovým bakterinem.

## Listeria

Pohyblivá G+ tyčinka, kataláza +, fakultativně anaerobní. Jméno dostala po lordu Listerovi, který zavedl antisepsi v chirurgii.

### Vlastnosti a přenos

Listerie jsou značně odolné, přežívají poměrně vysoké teploty a množí se při nízkých teplotách. Kromě toho snášejí vysoké koncentrace NaCl (skoro jako stafylokoky). Mohou být přítomny v potravinách, především v mléčných výrobcích vč. sýrů. Zdrojem může být člověk či zvíře.

### Význam a rozdělení

Ze 7 druhů je pro člověka patogenní pouze **L. monocytogenes** a částečně **L. ivanovii**. Listerióza má různé podoby, od nespecifické, někdy podobné infekční mononukleóze, přes zápal plic a sepsi až po záněty mozkových blan. Závažná je především u těhotných.

### Faktory patogenity

Při vzniku patogenity u Listerie má velký význam to, že je schopná přežít uvnitř makrofágů. V cytoplasmě je totiž schopna odolat účinku fagolysosomu, tedy buněčné organely určené k rozložení bakterií. Kromě toho Listeria produkuje několik toxinů, např. listeriolysin, podobný streptolysinu O *Str. pyogenes* nebo pneumolysin pneumokoků.

### Diagnostika

MIKROSKOPIE: význam má kromě Grama také nativní preparát (pohyb); musí se ale předtím kultivovat při pokojové teplotě, ne při 37 °C

KULTIVACE: dobře roste na běžných půdách, na KA má obvykle úzkou zónu β-hemolýzy. Vzhled kolonií připomíná streptokoky či enterokoky, s kterými může být L. snadno zaměněna.

DALŠÍ TESTY: Lze využít některých biochemických vlastností. Dále lze zkoumat hemolytické interakce podobné CAMP testu, tj. podezřelý kmen očkovat kolmo na kmen *S. aureus* nebo *Rhodococcus equi*.

### Léčba

Ampicilin, rifampicin, chloramfenikol. Nesmějí se užít cefalosporiny.

## Rhodococcus a Arcanobacterium

Jsou to G+ tyčinky, řazené dříve mezi corynebacteria. **Rhodococcus** způsobuje infekce u koní. Člověk se nakazí vzácně. Oba rody jsou zajímavé produkcí hemolysinů, které s jinými hemolysinů vykazují zesílení či oslabení hemolýzy, což lze využít k diagnostice.

## Erysipelothrix

**E. rhusiopathiae** je nepohyblivá, kataláza negativní G+ tyčinka. Způsobuje červenku u prasat, onemocnění člověka (erysipeloid) je obvykle vázáno na nákazu při práci se zvířaty. Obvykle jde o infekci rány, vzácně sepsi se zánětem nitroblány srdeční. Diagnostika využívá mikroskopie a biochemie, k léčbě se užije penicilin, chloramfenikol či tetracyklin.

## Bacillus

Je to G+ tyčinka, na rozdíl od všech předchozích tvoří spory. To jim umožňuje dlouhodobé přežívání v prostředí. Také to usnadňuje jejich využití jako biologické zbraně. Až na *B. anthracis* jsou pohyblivé.

## Vlastnosti a přenos

Bacilly jsou velmi odolné. *B. anthracis* se nalézá u býložravých zvířat, od kterých se člověk nakazí. *B. cereus* se nachází hojně v prostředí včetně obilnin - odtud jeho název (cereálie = obilniny).

## Význam a rozdělení

Nepočítáme-li výjimky, mohou pouze dva druhy vyvolat lidské infekce, a i to obvykle u lidí s postiženou imunitou. Je to ***B. anthracis*** (jinak původce tzv. uhláku dobytka, dnes už vzácného, velmi zpopularizovaný jistým teroristou saúdskoarabského původu) a ***B. cereus***. U *B. anthracis* mohou infekce probíhat jako kožní, plicní nebo střevní; pokud už propuknou, mohou být těžký, i smrtící průběh. *B. cereus* způsobuje střevní toxikózu, např. i u kojenců v ústavu, kde se pomnoží v uchovávaném mléce. Průjem se projeví za 5 až 18 hodin od požití. Některé druhy (***B. subtilis***, ***B. stearothermophilus***) se využívají ke kontrole sterilizačních přístrojů, protože vydrží víc než kterýkoli jiný mikrob v běžném prostředí. Pokud tedy kontrolní kmen uhynie, je přístroj zaručeně v pořádku.

V mikrobiologických laboratořích představují nepatogenní Bacilly častou kontaminaci kultivačních půd.

## Faktory patogenity

Bacilly působí prostřednictvím toxinů, u *B. anthracis* se navíc projevuje účinek pouzdra, který brání pohlcení bacila.

## Diagnostika

MIKROSKOPIE. Typické velké G+ tyčky s neobarvenými sporiemi. Spory (na rozdíl od rodu *Clostridium*) nejsou širší než buňka.

KULTIVACE. Typický bohatý nárůst drobných kolonií, často s výraznou beta hemolýzou.

## Actinomyces a Nocardia

Bakterie ze skupiny Actinomycetales jsou G+ bakterie, tvořící dlouhá, rozvětvená pleomorfní vlákna. Jsou nepohyblivé, mikroaerofilní, fakultativně nebo striktně anaerobní (nocardie jsou spíše aerobní, actinomycety spíše anaerobní).

## Význam a rozdělení

Kromě rodů ***Actinomyces*** a ***Nocardia*** se do této skupiny řadí také rody ***Propionibacterium***, ***Bifidobacterium***, ***Streptomyces***, někdy se sem řadí také *Rhodococcus*. Žijí jako komenzálové v ústech, ve střevě a v pochvě, přičemž rovnováha bakterie-hostitel může být porušena a pak se podílejí na chronických zánětech, při kterých se tvoří drobná "sírová granula". Nejčastější lokalizace (hlavně u aktinomycet) je v oblasti tváře a krku (zdrojem jsou bakterie z vlastní ústní dutiny). ***Propionibacterium acnei*** se podílí na vzniku akné. ***Bifidobacteria*** se používají v mléčném průmyslu.

## Přenos

K infekci obvykle dochází endogenně, tj. zdrojem jsou vlastní bakterie.

## Diagnostika

MIKROSKOPIE má u těchto mikrobů velký význam, protože jejich kultivace se často nepodaří. Typické jsou "chuchvalce" obsahující větvená vlákna. Najdou se ale také kokoidní útvary. Aktinomycety se větví spíše v ostrém úhlu, nocardie v úhlu pravém.

KULTIVACE se provádí obvykle na KA a také na Sabouraudově agaru (to souvisí s tím, že tyto bakterie se některými vlastnostmi blíží kvasinkám). Lze použít BIOCHEMICKÉ TESTY.



## Léčba

Citlivost na antibiotika je variabilní, lze použít chloramfenikol, erytromycin, tetracykliny. Někdy je nutná chirurgická léčba.

## Lactobacillus

Tato G+ tyčinka má mnoho druhů, které jsou významnou složkou běžné flóry v pochvě, ale také ve střevě. Vyhovuje jim nízké pH, které samy svou činností (tvorbou kyseliny mléčné) vytvářejí. Poševní laktobacily produkcí působků (bakteriocinů) chrání pochvu před patogeny. Říká se jim zde "Döderleinův bacil". Jde především o druh **L. acidophilus**. Laktobacily jsou obecně fakultativně anaerobní, avšak aerobně špatně kultivovatelné, a proto se často řadí k anaerobům. Jsou obsaženy v jogurtech, které se proto používají k obnově střevní flóry ve střevě, ale i v pochvě.

## ENTEROBAKTÉRIE

### Obecné vlastnosti enterobaktérií

Enterobaktérie - čeleď *Enterobacteriaceae* - jsou pro klinické mikrobiology nejdůležitější čeledí gramnegativních tyčinek, a možná baktérií vůbec. Mají však velký význam i pro jiná mikrobiologická odvětví. Platí to zejména pro baktérii možná světově nejproslulejší - druh *Escherichia coli*.

V názvu najdeme řecké enteron - střevo => nejpřirozenějším životním prostředím většiny enterobaktérií je střevo člověka a jiných obratlovců.

### Vlastnosti a přenos

Enterobaktérie jsou fakultativně anaerobní. Jsou výborně přizpůsobené životu ve střevě; nejlépe přizpůsobené jsou ty, které člověku neškodí, trochu hůř ty, které škodí. Dobře snášejí i změny teplot a do jisté míry i vyschnutí. Odolnost vůči zevním vlivům ale zdaleka není u všech enterobaktérií stejná. Většina z nich se přenáší cestou fekálně-orální. Rozdíl ale existují: někde (salmonelóza) jde především o alimentární infekce (potravinami), jinde (úplavice) spíše o "nemoci špinavých rukou" a u některých (*E. coli*) se nedá vyloučit ani občasný vzdušný přenos. Řada infekcí se endogenního původu, to znamená, že baktérie pocházející z pacientova střeva mu způsobí infekci jinde.

Některé enterobaktérie, zejména *Serratia* (ale nejen ony), mohou dlouhodobě přežívat i ve vnějším prostředí a stát se pak obávanými původci nozokomiálních epidemií.

### Význam

Enterobaktérie mohou ve střevě působit jako komenzálové a dělit se s námi o potravu, jako saprophyté si pochutnávat na organických zbytcích, ale také jako parazitě nás obírat o živiny, ať už při kolonizaci sliznice, nebo při invazi do sliznice a pod ni. Rozdíly v chování ve střevě lze pozorovat mezi rody a druhy, ale často i mezi kmeny jednoho druhu. V praxi tohle všechno znamená, že je plynulý přechod mezi stavem, kdy enterobaktérie ve střevě neškodí (a někdy i pomáhá - chrání střevo před jinými baktériemi a pomáhá člověku vyrábět vitamíny) a mezi stavem, kdy škodí: záleží často na poměru jednotlivých složek běžné flóry.

Mnohé enterobaktérie jsou občasným patogenem i mimo střevo. Je logické, že pokud se taková podnikavá enterobaktérie vydá řitním otvorem na cestu ven, narazí na své pouti nejčastěji na močopohlavní systém, a nepřekvapí, že právě enterobaktérie patří k nejčastějším patogenům v tomto systému. Infekce jiných částí těla (dýchací cesty, rány apod.) je méně běžná, ačkoli nijak vyjímečná, zejména u klebsiel, případně *Serratia*. Co se týče přítomnosti

enterobaktérií ve výtěrech z krku, bývá to často spíše náhodný nález (enterobaktérie jsou tam zavlečeny s potravou a po čase opět mizí). To ovšem neplatí u nemocničních pacientů, zejména v těžkém stavu, kdy enterobaktérie horní cesty dýchací musíme brát vážně.

Sepsis způsobené enterobaktériemi jsou časté u novorozenců a kojenců, a pak zase u velmi starých osob.

Pro praxi si rozdělíme enterobaktérie do čtyř skupin podle patogenity:

1. OBLIGÁTNÍ PATOGENY - PŮVODCI SYSTÉMOVÝCH INFEKcí: *Yersinia pestis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A, B, C*

2. OBLIGÁTNÍ PATOGENY - PŮVODCI SYSTÉMOVÝCH INFEKcí: salmonely, shigely, yersinie

3. PODMÍNĚNÉ PATOGENY: hlavně escherichie, klebsiely, enterobaktérie, pantoei, hafnie, serratie, protey, providencie, morganely a citrobaktérie

4. NEPATOGENNÍ - ty si zvlášť uvádět nebudeme, zajímavé ale je, že některé objevili čeští vědci a pojmenovali je např. po Českých Budějovicích (*Budvicia aquatica*) nebo po Praze (*Pragia fontium*).

## Faktory patogenity

V řadě případů se virulentní kmeny odlišují od kmenů méně virulentních nebo avirulentních v určitém delším úseku chromosomu, který obsahuje několik genů, zodpovědných za vytváření faktorů virulence. Takovým úsekům říkáme ostrov patogenity (pathogenicity islands) a jejich nebezpečnost spočívá v možnosti jejich přenesení do genetické jiných kmenů, dokonce i mezidruhově a mezírodově.

Z konkrétních faktorů se uplatňuje především lipopolysacharid (LPS) vnější membrány, a to jak jeho lipidická (= tuková) část (lipid A), tak i jeho část sacharidová (= cukerná).

Významné jsou dále různé faktory adhezivity, zejména fimbrie.

Některé enterobaktérie vytvářejí rozličné látky produkované navenek, ať už jsou to hemoliziny nebo jiné exotoxiny. Přitom se významně uplatňuje speciální způsob vylučování takzvaná sekrece III. typu. Podrobnější popis naleznete u jednotlivých baktérií.

## Diagnostika

MIKROSKOPIE. Jsou to gramnegativní tyčinky, dlouhé kolem dvou až tří mikrometrů a tlusté půl až tři čtvrtě mikrometru, které se málo liší navzájem a málo se také liší od jiných gramnegativních tyčinek, takže mikroskopie se moc neuplatní. V nativním preparátu je většina enterobaktérií pohyblivých, ale v praxi se to moc nevyužívá.

KULTIVACE. Používá se Endova půda, na které většina povinně patogenních enterobaktérií laktózu nefermentuje, takže půda zůstane bledá. Podmíněné patogeny většinou laktózu štěpí takže půda ztmavne do tmavočervena. Navíc na Endově půdě nerostou G+ bakterie, ale ani třeba neisserie. Z dalších půd se používá XLD agar a MAL agar, na kterých tvoří salmonely bledé kolonie s černým středem. Někde se také používají půdy DC (deoxycholát-citrát), WB (Wilson-Blairova) a SS agar (salmonella-shigella). V poslední době mají k dispozici bohatší laboratoře k dispozici takzvané chromogenní agary, které obsahují barvičky. Ty začnou být vidět jen v případě, že bakterie štěpí substrát, na který jsou navázané, a vtáhnou přitom barvičku do své buňky. Příkladem je Rambach agar.

BIOCHEMICKÉ URČENÍ. Enterobaktérie jsou kataláza pozitivní, oxidáza negativní, biochemicky značně aktivní. Převažuje fermentativní typ metabolismu (viz 2. ročník). Tím je můžeme odlišit od skupiny "nefermentujících tyčinek" (ty probereme později). Ty se totiž liší právě tím, že nefermentují glukózu (a jiné cukry). Biochemické vlastnosti enterobaktérií se liší i mezidruhově. Parazitické, povinně patogenní druhy (salmonely, shigelly) jsou méně aktivní. Saprofytické (jen podmíněně patogenní, třeba *E. coli* a protey) aktivnější, což je logické, protože jinak by těžko mohly využívat nejrůznější organické zbytky. Používá se testů v panelech (Enterotest16, Enterotest24, různé zahraniční).

PRŮKAZ ANTIGENU. Enterobaktérie (a spolu s nimi i některé příbuzné skupiny, zejména *Vibrionaceae*) mají tři základní typy antigenů, takzvaný OHK-systém. O-antigeny mají své jméno z

německého "ohne Hauch" (viz dále u H antigenů). Jsou to tělové antigeny a jsou to vlastně specifické části polysacharidového řetězce z lipopolysacharidu vnější membrány. Jednotlivé antigenní typy této skupiny se značí čísla (například O55, O111 apod.) H-antigeny získaly své jméno z německého "Hauch" = dech; povlak proteů, které jsou těmito antigeny vybaveny, připomínal dřevním badatelům zadýchané sklo. Jsou to antigeny bičíkové. Najdeme je pouze u enterobaktérií pohyblivých, vybavených bičíky - což je ovšem většina, jak již bylo řečeno. Jednotlivé antigeny této skupiny se označují většinou malými písmeny (například Hm). K-antigeny jsou kapsulární, pouzderné. Jsou nejméně významné pro diagnostiku. Antigenní analýza se používá hlavně u povinně patogenních druhů, a také u *Escherichia coli*, kde pomáhá rozeznat virulentnější a méně virulentní kmeny.

NEPŘÍMÝ PRŮKAZ, hlavně aglutinací, se používá u břišního tyfu a u yersinií.

CITLIVOST NA ANTIBIOTIKA. Nedělá se u kmenů ze stolice, protože u těch většinou antibiotika nepoužíváme. Dělá se difúzním diskovým testem na Müller-Hintonově agaru, na kterém všechny normálně rostou. U rezistentních kmenů se testuje přítomnost širokospektrých betalaktamáz (viz Léčba). Použijí se dva disky - cefotaxim samotný a cefotaxim s kyselinou klavulanovou. Test je pozitivní tehdy, když cefotaxim s kyselinou klavulanovou dělá větší zónu citlivosti, a to aspoň o 5 mm. Přitom ale platí, že ani taková kombinace by se neměla používat pro léčbu.

## Léčba

U průjmových onemocnění antibiotika jen nepatrně zkrátí dobu trvání klinických příznaků, zato (hlavně u salmonel) podstatně prodlouží dobu vylučování baktérií stolicí. Proto se nepoužívají.

Antibiotika jsou nutná hlavně u mimostřevní infekce. Používá se ampicilin, ko-amoxicilin, cefalosporiny, aminoglykosidy, chinolony, u močových infekcí nitrofurantoin.

Velmi závažným problémem je produkce tzv. širokospektrých betalaktamáz - ESBL (Extended Specter Beta Lactamase). Je častá zejména u klebsiel. V léčbě infekcí, způsobených těmito (často nemocničnými) kmeny lze použít karbapenemy (imipenem, meropenem) a cefalosporiny 4. generace (cefepim, cefpirom). Využít lze i některá nebetalaktamová antibiotika (aminoglykosidy, kolistin), je-li na ně kmen citlivý.

Ovšem ne každá rezistence enterobaktérií je způsobena ESBL.

## *Yersinia pestis*

*Yersinia pestis* je nejpatogennější z enterobaktérií, původce pravého moru. Mor je znám více než 3000 let. V některých částech světa se vyskytuje dodnes.

### Vlastnosti a přenos

Odolností se neliší od jiných enterobaktérií

Mor **přenáší** blecha morová. Baktérie ucpe její zažívací trakt, takže blecha je stále hladová a o to více saje a saje. Zdrojem jsou hlavně potkani. U plicní formy není blecha potřebná. Dnes se již mor v Evropě nevyskytuje.

### Význam

Podle cesty přenosu může dojít ke třem formám infekce.

Dýmějový (bubonický) mor přenáší blecha morová. Nemoc začne bolestí hlavy a nevolností. Přidává se vysoká teplota a objevují se zvětšené lymfatické uzliny. V některých případech mohou uzliny být velké i jako slepičí vejce. Během několika dnů buď pacient umře, nebo mu začne být lépe.

Plicní forma se může vyskytnout pouze tam, kde je baktérií hodně k nákaze dojde přímým vdechnutím yersinií. Je ještě nebezpečnější.

Vzácná je septická forma.

## Diagnostika

Jen specializované laboratoře. Založena je na průkazu protilátek pasivní hemaglutinací.

## Léčba

Antibiotická.

## *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis*

Na rozdíl od morové yersinie způsobují nákazy postihující zejména střevo.

### Vlastnosti a přenos

Je přizpůsobena životu ve střevě. Hodně se vyskytuje v oblasti červovitého výběžku (apendixu), libuje si totiž ve tkáních bohatých na lymfu (mízu). Dokáže se dobře bránit působení lymfocytů, které v lymfě žijí. Přenáší se fekálně orálně. Zdrojem infekce je nejčastěji vepřové maso.

### Význam

Způsobují střevní infekce, někdy napodobují zánět slepého střeva. Nemusí však být vždy přítomny průjmy - časté jsou také bolesti břicha (hlavně u školních dětí) a horčka. Vzácné jsou komplikace (zvětšení jater a sleziny, smrt).

### Faktory patogenity

Uplatňuje se schopnost vychytávat železo z krve a využívat ho ve prospěch bakterie. Významné také je, že yersinie pronikají často dovnitř buněk.

## Diagnostika

MIKROSKOPIE: G- tyčinky, lépe se barví na konci, než uprostřed (tzv. polární barvení). Tyčinky často připomínají zavírací špendlík.

KULTIVACE je snadná, roste na běžných půdách v širokém teplotním rozmezí (od 0 do 40 °C) s optimem kolem 30 °C. Používá se selektivně diagnostická půda CIN.

BIOCHEMICKÉ URČENÍ se dělá jako u ostatních enterobaktérií. Typické je štěpení močoviny. Používá se také ANTIGENNÍ ANALÝZA a NEPŘÍMÝ PRŮKAZ.

## Léčba

Většinou stačí léčba příznaků, méně často se používají antibiotika, zejména tetracyklinová.

## Poznámka

Vedle uvedených tří druhů yersinií existuje ještě řada dalších s menším nebo dosud neurčeným významem pro člověka. Jedním z nich je též *Yersinia aldovae*, pojmenovaná po světoznámé české bakterioložce dr. Evě Aldové (na podzim 2002 oslavila v plné svěžesti 80. narozeniny).

## *Salmonella enterica*

Způsobuje jednak břišní tyfus, jednak salmonelózu - podle toho, o který sérotyp (antigenní typ) se jedná. Všechny sérotypy ovšem patří k jednomu druhu. Dříve se to nevědělo a sérotypy se považovaly za samostatné druhy (ve starších učebnicích).

### Vlastnosti a přenos

Jsou poměrně odolné, snesou i vyschnutí. Přenos je většinou alimentární, zdrojem bývají vajíčka - kachní jsou horší než slepičí.

Pro infekci je nutná vysoká infekční dávka - asi 100 000 bakterií.

### **Význam a rozdělení**

Existují takzvané primárně antropopatógenní salmonelly a primárně zoopatógenní salmonelly.

**Ty první** způsobují těžká celková onemocnění u člověka - postižení střeva u nich není podstatné a často úplně chybí. Do této skupiny patří salmonelly náležející k sérovarům Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B a Paratyphi C. Jedná se o velmi závažné původce břišního tyfu, resp. paratyfů. Jsou to vlastně seps s bolestí hlavy. Typické je dlouhodobé, často celoživotní nosičství. Bacilonosiči tyfu se musí hlásit a musí se chovat tak, aby někoho nenakazili.

*Vojíne Vomáčko, nastoupíte v kuchyni! - Ale ná nemůžu, jsem bacilonosič tyfu - To nevadí, nastoupíte v kuchyni a bacily bude nosit Vopička!*

**Ty druhé** postihují spíše ptáky či jiná zvířata a člověk se nakazí vlastně náhodou. Většinou se projeví jen průjemem. Charakteristické jsou průjmy s velkou frekvencí stolic, ale bez přítomnosti krve ve stolici. Někdy bývá zvracení, téměř vždy je přítomna horečka. U malých dětí a též starších a oslabených osob hrozí salmonelová seps, která bývá nezdědka smrtelná..

### **Diagnostika**

MIKROSKOPICKY se nijak neliší od ostatních salmonel a dalších enterobaktérií, proto se mikroskopie prakticky nepoužívá.

KULTIVACE je zato důležitá. Na Endově půdě jsou bledé, protože neštěpí laktózu. Na půdách XLD, MAL a dalších podobných tvoří bledé kolonie s černým středem. Existuje pro ně také tekutá selektivně-pomnožovací půda - selenitový bujón.

BIOCHEMICKY jsou salmonely poměrně málo aktivní. Typické jsou ale tím, že štěpí sirovodík - to se na různých kultivačních půdách projeví černým zbarvením (sulfidy) a projeví se to i při testech, jako je ENTEROtest.

ANTIGENNÍ ANALÝZA se používá velmi často, většinou jako sklíčková aglutinace. Jde o to zjistit, o který sérotyp se jedná, už kvůli sledování souvislostí při epidemiích. Kromě toho průkaz antigenu ověří kultivační a biochemickou diagnostiku, což je užitečné, protože říci o někom, že má salmonelózu, není jen tak.

NEPŘÍMÁ DIAGNOSTIKA má význam hlavně u tyfu. Používá se takzvaná Widalova reakce. Při ní se pacientovo sérum, různě ředěné, míchá s antigeny. Používají se jednak tělové antigeny (říká se jim také O-antigeny), jednak bičíkové (H-antigeny).

### **Faktory patogenity (virulence)**

Nenahodávají sliznici, ale fyzikálně-chemickou cestou vtahují do střeva vodu z těla, a tím dělají průjem.

### **Léčba**

Kromě tyfu a komplikací se nedoporučují antibiotika. Mohou sice zkrátit dobu klinických příznaků, zároveň však zpravidla prodlouží dobu vylučování salmonel. U salmonelózy sice neexistuje pravé nosičství jako u tyfu, přesto vylučování salmonel přetrvává běžně několik týdnů, někdy i měsíců. Omoci může podávání potravin obsahujících složky střevní mikroflóry..

### **Shigella**

Způsobuje bacilární úplavici neboli dyzentérii. Jsou jí 4 druhy.

### **Vlastnosti a přenos**

Je méně odolná než třeba salmonela. Na rozdíl od ní se člověk nenakazí od ptáků přes potraviny, ale od jiného člověka buď přímo (nemoc špinavých rukou) nebo přes kontaminovaný vodní zdroj. Dnes už to ale není časté.

Infekční dávka je nižší než u salmonelózy (asi 100 bakterií).

### **Význam**

Úplavice je časté vylučování malých množství stolice, s neodolatelným nucením na ni. Stolica často obsahuje hlen a hnís a může být přítomna i krev. Bývají kolikovitě bolesti.

### **Faktory patogenity (virulence)**

Shigelly vnikají do buněk tlustého střeva.

U některých kmenů *Shigella dysenteriae* se navíc uplatňuje tzv. shiga toxin, který má účinky na střevo i na nervy.

### **Diagnostika**

KULTIVACE. Na Endově agaru jsou laktóza negativní, na některých dalších půdách (XLD, MAL) tvoří bledé kolonie.

BIOCHEMICKÉ URČENÍ. Jsou málo aktivní. Těžko se ale odlišují od neaktivních či opožděně aktivních kmenů *Escherichia coli*.

ANTIGENNÍ ANALÝZA. Shigely lze typizovat pomocí O-antigenů. Ty také pomáhají v druhovém určení shigel (existují čtyři druhy), neboť biochemicky se tyto druhy rozlišují poměrně špatně.

### **Léčba**

Doplnění tekutin. V případě potřeby různá antibiotika.

## **Escherichia**

Jmenuje se podle Theodora von Eschericha, pediatra, který žil ve Vídni a velmi se zasloužil o péči o rodičky a novorozence a prevenci novorozeneckých infekcí. Později se o escherichie zajímali genetici a jiní vědci a dodnes je to asi nejdůležitější tzv. modelový organismus - to znamená mikrob, pomocí kterého badatelé pozdávají zákonitosti i jiných organismů.

### **Vlastnosti a přenos**

*Escherichia coli* patří spíše mezi odolnější enterobaktérie. Mikrob se přenáší fekálně orálně, ale nelze vyloučit ani přenos vzduchem (na krátké vzdálenosti) a přes předměny. Mimostřevní infekce jsou často endogenního původu, tj. mikrob se dostane ze střeva pacienta do jiné orgánové soustavy.

### **Rozdělení, význam a faktory virulence**

Jediným pro člověka významným druhem je *Escherichia coli*.

*Escherichia coli* je běžnou součástí střevní mikroflóry zdravých lidí. Znemohňuje průnik patogenů (produkuje tzv. koliciny, které jsou pro některé jiné bakterie toxické), jednak je makroorganismu prospěšná i přímo - podílí se na tvorbě některých vitamínů, především K. Jako podmíněný patogen ale může způsobovat infekce - ve střevě i mimo střevo. Zvláště ve střevě jsou to ale většinou jen určité kmeny, vybavené specifickými faktory virulence.

PŮSOBNÍ VE STŘEVĚ. Existuje několik způsobů, jak mohou escherichie "zlobit" ve střevě. Podle způsobu, "jak to dělají, že zlobí" se označují různými zkratkami. U první skupiny se to ovšem pořádně neví, a proto se jí říká jednoduše enteropatogenní *E. coli* neboli EPEC (také se jim někdy říká dyspeptické). Způsobují novorozenecké průjmy. Ví se, že mezi EPEC patří určité antigenní typy, např. O55 nebo O111. \* Kmeny ETEC, enterotoxigenní produkují enterotoxiny. Enterotoxiny jsou dvou typů - ST (tepelně stabilní) a LT (tepelně labilní). Jsou příčinou cestovatelských průjmů - takový průjem si prodělá skoro každý, kdo z Evropy zavítá do Afriky nebo Asie. \* Kmeny EIEC - enteroinvazivní disponují faktory invazivity, které umožňují infazi do střeva. Infekce těmito kmeny vede ke krvavým průjmům, které jsou podobné průjmům shigelovým. \* Kmeny STEC (shiga-like

toxigenní) jsou nejzávažnější. Někdy se jim také říká VTEC nebo EHEC (to nemusíte umět, to píšou jen proto, kdybyste se s těmito zkratkami snad někde setkali). Na rozdíl od předchozích nejsou podobné "běžným" shigellám, ale těm méně běžným, produkujícím shiga-toxin (viz shigelly). Vyvolávají krvavé průjmy, ale nejen ty: často se dostanou mimo střevo, kde vyvolávají rozvrat metabolismu a často i smrt. Tyto kmeny se v poslední době objevují v souvislosti se špatně tepelně opracovanými hamburgery, např. v USA a v Japonsku (ale i u nás).

**PŮSOBENÍ MIMO STŘEVO.** Kmeny UPEC (uropatogenní) mají specifické faktory virulence (adhesiny) k vazbě na epitelie močových cest. Je ovšem pravdou že ne každý kmen, působící močovou infekci, je UPEC. Pokud malou holčičku maminka nenaučí, že se má po záchodě utírat zepředu dozadu, zanesou si taková holčička snadno *E. coli* i jiné složky střevní flóry do močové trubice. Totéž se může stát vyznavačům některých bizarních sexuálních praktik. - Tak či tak, *Escherichia coli* je vůbec nejčastějším původcem močových infekcí. Kmeny způsobující dýchací infekce nejsou jednoznačně definovány a pojmenovány jako předchozí. Někdy je sporné, kdy se vlastně jedná o infekci a kdy jen o náhodný nálezn. Nejhorší bývají sepsa a infekce ran.

## **Diagnostika**

**KULTIVACE.** *Escherichia coli* roste na běžných médiích včetně Müller-Hintonovy půdy a včetně Endova agaru, na kterém purpurová barva prozradí její laktózapozitivitu. Pro diagnostiku STEC se používá speciální půda McConkey se sorbitolem. Tyto kmeny, na rozdíl od ostatních, neštěpí cukr sorbitol, a tak jsou na této půdě bezbarvé, ostatní červené.

**BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE.** Je to průměrně aktivní enterobaktérie. Štěpí glukózu za tvorby plynu, štěpí indol, neštěpí močovinu. Bohužel se občas vyskytují kmeny, které mají pomalejší metabolismus, a pak se jeví jako laktóza negativní a bývají špatně určeny. Z konkrétních testů se používá například EnteroTest 16, EnteroTest 24, v některých případech stačí i jednotlivý rychlý test (pokud se třeba diagnostik rozhoduje jen mezi *E. coli* a klebsiellou, poslouží dobře PYR test, u *E. coli* negativní).

**ANTIGENNÍ ANALÝZA** (podle OHK systému) se používá především k diagnostice EPEC, případně i dalších skupin uvedených výše.

## **Léčba**

Například ampicilin, kotrimoxazol, cefalosporiny, tetracyklinová antibiotika nebo chinolony.

## **Hafnia**

### **Vlastnostmi a přenosem**

se neliší od enterobakterů nebo escherichií.

### **Význam a rozdělení**

Je to podmíněný patogen. Jediným druhem je *Hafnia alvei*.

## **Diagnostika**

Jako u ostatních enterobakterií. Hafnia je možná běžnější, než se zdá; možná je spousta hafnií špatně určena, protože se na ni zapomeno a považuje se omylem na něco jiného.

## **Léčba**

Je poměrně rezistentní na antibiotika.

## **Enterobacter a Pantoea**

Vedle *E. coli* jsou enterobaktery druhou nejběžnější enterobaktérií lidského střeva. *Pantoea* je bývalý enterobakter, vyčleněný kvůli biochemickým odlišnostem zvlášť. Významem se ale od enterobakterů neliší.

### **Vlastnosti a přenos**

Neliší se od obecné charakteristiky enterobaktérií

### **Význam a rozdělení**

Nejvýznamnější pro člověka jsou druhy *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* a *Pantoea agglomerans*. Všechny se zcela běžně vyskytují ve střevě. Patogenem se ve střevě téměř nestávají a ani mimostřevní infekce nejsou zvlášť běžné. Ještě tak nejspíše jsou to infekce močových cest, případně dýchací infekce a závažné sepsy.

### **Diagnostika**

je založena na kultivaci (na Endově agaru má vypouklejší kolonie než *E. coli*) a biochemické identifikaci (např. EnteroTestem 16 nebo 24).

### **Léčba**

Jsou primárně rezistentní k cefalosporinům 1. a 2. generace a většinou i k ampicilinu. Ostatní antibiotika, uvedená v obecných vlastnostech enterobaktérií, lze použít.

## **Klebsiella**

Je blízká rodu *Enterobacter*, se kterým sdílí řadu charakteristik. Je ale lépe adaptována i na život mimo střevo.

### **Vlastnosti a přenos**

Přenáší se fekálně orálně, ale i kontaktem a na krátké vzdálenosti i vzduchem, proto také bývá častěji než ostatní enterobaktérie původcem infekcí dýchacích cest. Nemí přízpusobena čistě jen životu ve střevě, ale i životu ve vnějším prostředí.

### **Význam a rozdělení**

Nejběžnějším druhem klebsiel je *Klebsiella pneumoniae*. Poměrně běžná je též *K. oxytoca*. Jako střevní komenzál je méně běžná než enterobakter. Zato je jedním z nejběžnějších původců močových infekcí. Oproti jiným enterobaktériím se ale poměrně často uplatňuje i v případě sepsí, zejména nozokomiálních, a infekcí dýchacích cest, například pneumonií nebo i plicních abscesů.

### **Faktory virulence**

Uplatňují se systémy určené k využití železa z krve pacienta. Dále jsou to různé brvy a do jisté míry snad také pouzdro.

### **Diagnostika**

MIKROSKOPIE. Jsou to polárně se barvící gramnegativní tyčinky. Při speciálním barvení se dá prokázat velmi častá tvorba pouzdra.

KULTIVACE. Kolonie jsou kvůli tvorbě pouzdra často hlenovité, vždy jsou hodně vypouklé, na krevním agaru bílé (na rozdíl od escherichií, které jsou spíše šedé), na Endově agaru vypadají kolonie jako jahodová zmrzlina.



BIOCHEMICKY je značně aktivní. Obtížně se odlišuje od enterobaktera. Jsou nepohyblivé, štěpí močovinu. PYR-test je pozitivní, na rozdíl od escherichíí. *K. oxytoca* se pozná pomocí štěpení indolu.

PRŮKAZ CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKA je v případě klebsiell často doprovázen testem produkce širokospektré betalaktamázy. Klebsiella je totiž...

## Léčba

...nejvýznamnějším producentem ESBL. Na druhé straně kmeny, které ESBL neprodukují, jsou pěkně citlivé, primárně rezistentní pouze k ampicilinu. Dobře reagují na léčbu cefalosporiny, chinolony, ko-trimoxazolem, případně tetracyklíny.

## Serratia

### Vlastnosti a přenos

I když patří mezi enterobakterie, svým způsobem života docela připomíná G-nefermentující tyčky, které budeme probírat za několik týdnů. Najdeme ji spíše ve vnějším prostředí než ve střevě, vzdoruje desinfekci a je výrazným nozokomiálním patogenem. Svou adaptací na život mimo tělo dokazuje i častou tvorbou pigmentů - chrání ji před sluncem, to by ve střevě nepotřebovala

### Význam a rozdělení

Nejčastější je *Serratia marcescens*.

Může způsobovat různé infekce, např. dýchací či ranné, často v nemocničním prostředí.

### Diagnostika

Roste na běžných půdách, někdy (ale málokdy) produkuje červené pigmenty. Používá se biochemická identifikace. V diagnostice pomáhá také test citlivosti na antibiotika - u kolistinu vidíme typický obraz: kolem disku je sice zóna, ale uvnitř zóny jsou rezistentní kolonie (viz obrázek vpravo).

## Léčba

je obtížná. *Serratia* bývá velmi rezistentní, primární rezistence je na ampicilin, cefalosporiny I. a II. generace a také na kolistin.

## Proteus, Providencia a Morganella

Tyto tři rody původně byly jedním rodem - rodem *Proteus*. I když se tento rod rozpadl, stále je uznávána jejich blízká příbuznost.

### Vlastnosti a přenos

Protey jsou velmi pohyblivé a jsou vysoce biochemicky aktivní. Jsou dobře **odolné** zejména vůči podmínkám ve střevě, dobře však snášejí i život "venku". **Přenos** fekálně orální, infekce často endogenní.

### Význam a rozdělení

K nejdůležitějším druhům patří *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri* a *Morganella morganii*.

Všechny bývají běžně přítomné ve střevě; jsou dokonale přizpůsobené k likvidaci organických zbytků. S trochou nadsázky lze prohlásit, že jde o "mikrohyeny". Je jim přítom jedno, zda právě likvidují zvířecí mrtvolku, nebo nestrávené zbytky lidské potravy. Spolu se striktními anaeroby se významně podílejí na formování naší stolice.

Patogenem bývají spíše mimo střevo, zejména v močových cestách.

### **Faktory virulence**

Uplatňuje se výrazná ureázová aktivita. Tvoří amoniak z močoviny, a tím dráždí sliznici nízkým pH. Nízké pH také může přispívat k tvorbě některých typů močových kamenů.

### **Diagnostika**

KULTIVOVAT se dají na všech běžných půdách. Některé kmeny rodu *Proteus* (nikoli ostatních dvou rodů) se na některých půdách plazí po povrchu agaru. Z místa, kam byly vyočkovány, jsou schopny někdy během jednoho dne přeplazit celou Petriho misku. Plazí se ve vlnách - říká se tomu fenomén příbojové vlny nebo Raussův fenomén. - Při kultivaci je velmi charakteristický také vydatný zápach.

BIOCHEMICKY jsou vysoce aktivní: štěpí zejména bílkoviny. Všechny bakterie této skupiny výrazně štěpí močovinu. Zástupci rodu *Proteus* (ne však obou ostatních rodů) také tvoří sirovodík. Kromě *Proteus mirabilis* tvoří všechny tyto bakterie indol - to se používá zejména při rozlišení *Proteus mirabilis* od *Proteus vulgaris*. Typická REZISTENCE KE KOLISTINU u všech tří rodů má také význam v diagnostice. Také další primární rezistence se dají v diagnostice využívat.

### **Léčba**

Rod *Proteus* je poměrně citlivý na antibiotika, při respektování určitých přirozených rezistencí; ostatní dva rody jsou citlivé méně.

## **Citrobacter**

### **Vlastnosti a přenos**

odpovídají obecné charakteristice enterobaktérií.

### **Význam a rozdělení**

Nejběžnější jsou druhy *C. freundii* a *C. koseri*. Citrobakter je podmíněným patogenem ve střevě. Je také občasným patogenem v močových cestách. Z dalších infekcí mohou připadat v úvahu sepse, endokarditidy, meningitidy (i novorozenecké) a mozkové abscesy i další.

### **Diagnostika**

Je podobný *E. coli*, se kterou se může snadno splést. Někdy tvoří sirovodík a může být blízký salmonelám. Je ale laktóza pozitivní. Od salmonel ho také odliší pozitivní PYR test.

### **Léčba**

Citrobaktery jsou primárně rezistentní k cefalosporinům I. a II. generace. Účinný bývá ko-amoxicilin, chinolony, aminoglykosidy či ko-trimoxazol.

## **Ostatní enterobaktérie**

Mezi další rody, které mohou být patogenní pro člověka, patří *Cedecea*, *Edwardsiella*, *Kluyvera*, *Erwinia*, *Kluyvera*, *Buttauxiella*.

Další významné nejsou, jsou však třeba zajímavé - třeba *Budvicia aquatica* byla nalezena v povrchové vodě poblíž Českých Budějovic. V pražské kašně byl zase nalezen druh *Pragia fontium*.

## ČELEĎ VIBRIONACEAE

### Rody *Vibrio*, *Aeromonas* a *Plesiomonas*

Tato čeleď je příbuzná enterobaktériím. *Vibria* jsou tyčinky zahnuté a pohyblivé. Většina z nich jsou přirození obyvatelé sladkých či slaných vod, patogeni vodních živočichů, ale některé mohou vyvolat i lidské infekce. Stejně jako enterobaktérie jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky, kataláza pozitivní, ale na rozdíl od enterobaktérií také oxidáza pozitivní. Od tzv. nefermentujících tyčinek se odlišují tím, že fermentují glukózu, což se projeví změnou barvy Hajnovy půdy.

### Vlastnosti

Mikroby této skupiny jsou vysoce odolné vůči určitým vlivům (koncentrace solí vč. žlučových), ale vůči jiným vlivům jsou dosti citlivé (vyschnutí). Přenos fekálně-orální.

### Význam a rozdělení

Ze všech rodů *Vibrií* je nejvýznamnější *Vibrio cholerae*. Všechny kmeny ale nejsou stejné. Záleží na antigenním typu a na biotypu.

Antigenní typ O1, biotyp Classic způsobuje klasickou cholera - závažné onemocnění s těžkými vodovými průjmy, hrozí smrt odvodněním. Dnes se vyskytuje málo.

Antigenní typ O1, biotyp El Tor způsobuje méně závažné onemocnění, ale zato je velmi nakažlivý. I dnes se hodně vyskytuje, hlavně v Indii.

Antigenní typ O139 je stejně závažný jako O1 Classic.

Kmeny non-O1-non-O139 způsobují mírnější varianty onemocnění.

Ostatní vibrii se nazývají také halofilní, protože jim vyhovují poměrně vyšší koncentrace NaCl (kolem 6,5 %, výjimečně i 10 %). Jen výjimečně jsou lidským patogenem (průjmy), a to zejména *Vibrio parahaemolyticus*.

Aeromonády způsobují výjimečně lidská onemocnění (obvykle průjmová). Totéž platí pro *Plesiomonas shigelloides*. To je bakterie zajímavá tím, že je antigeně podobná shigellám a může vést k chybné diagnóze. Všechny druhy mohou výjimečně vyvolat i mimostřevní onemocnění (například v případě poranění při kuchání ryb apod.)

### Faktory patogenity

Mohou produkovat různé toxiny, největší význam má cholery toxin u klasických kmenů *V. cholerae*. Ten vyvolává chemickou cestou uvolnění velkého množství vody do střeva.

### Diagnostika

MIKROSKOPIE. Kromě Gramova barvení lze u *Vibrií* použít nativního preparátu v zástinu.

KULTIVACE. Ke kultivaci se používá TCŽS agar (Thioglykolát- citrát-žluč-sacharóza). *V. cholerae* na něm roste ve velkých žlutých koloniích. *Aeromonády* rostou i na běž. půdách. Halof. *vibria* rostou na půdách se solí.

BIOCHEMIE. K identifikaci lze použít metod používaných u enterobaktérií, např. Enterotest.

AGLUTINACE může mít význam u cholery.

### Léčba

u průjmů zavodnění, jinak antibiotika dle citlivosti, u cholery možná prevence očkováním, avšak profylaktika nepřetrvávají dlouho.

# Gramnegativní nefermentující tyčky

## (GNFB, lidově "nepatřule")

Jsou to gramnegativní, na rozdíl od enterobaktérií striktně aerobní tyčky. Dalším rozdílem oproti enterobaktériím je, že jsou málo biochemicky aktivní, zejména co se týče fermentativního metabolismu. Nefermentují glukózu (a většinou ani další cukry), ale jsou často schopny je oxidovat. Je to jejich způsob, jak přežít v prostředí, kde je málo živin, ale zato dost kyslíku (vnější prostředí, rostliny - mnohé z nich jsou patogeny rostlin).

### Přenos a vlastnosti

Tyto bakterie ve srovnání s enterobaktériemi mnohem hůř snášejí prostředí střeva, zato ve vnějším prostředí se přežívají a množí. Bývají velmi odolné k antibiotikům i desinfekčním činidlům (někdy se dokonce množí i v roztoku desinfekce!) a proto jsou klasickými původci nemocničních (nozokomiálních) nákaz. Dobře snášejí nízké teploty, což také souvisí s jejich schopností života ve vnějším prostředí. Přenášejí se vzduchem a přímým kontaktem.

### Význam a rozdělení.

Význam pro člověka je u všech zástupců této skupiny podobný. U člověka, kterému jinak nic není, zřídka vyvolají infekci. Napadají zpravidla lidi oslabené (lidé s poruchami imunity, po transplantacích, ale do jisté míry i v případě jiných nemocí). Branou vstupu bývají otevřené rány, zejména popáleniny, a dále dýchací cesty. Stává se to zvláště u dědičného onemocnění - cystické fibrózy, kdy v plicích chybějí normální obranné mechanismy.

Vyvolávají záněty plic, v ranách hnisavé infekce a nebezpečné sepse. Nejdůležitější je rod *Pseudomonas* a v rámci něho pak druh *Pseudomonas aeruginosa*. Dále pak *Burkholderia cepacia* (způsobuje hnilobu cibule), *Stenotrophomonas maltophilia* a rod *Acinetobacter*. Někdy se do této skupiny řadí i kokotyčky rodu *Moraxella* (probrali jsme je u neisserií).

Malý význam u nás má *Burkholderia mallei* (původce zoonózy, zvané vozhřivka) a *B. pseudomallei* (původce tropické choroby - melioidózy).

Mezi nefermentující tyčinky v širším smyslu se dají zařadit i některé další mikroby, které probereme zvlášť (bordetelly, legionelly apod.).

### Faktory virulence

Uplatňují se jak faktory vázané na buněčnou stěnu (například polysacharid alginát), tak také produkty vylučované ven, zaměřené hlavně na rozrušování vaziva (např. fibrinolysin).

### Diagnostika

MIKROSKOPIE. Nelíší se od jiných G- tyček. Jsou většinou pohyblivé, přesto nativní preparát nemá v diagnostice význam.

KULTIVACE. Na KA se liší od enterobaktérií nanejvýš tím, že jejich kolonie jsou o něco menší. Může být i hemolýza. Na Endově půdě jsou laktóza většinou -, ale při tvorbě pigmentů se může zdát, že jsou laktóza +, i když nejsou. Při určování může pomoci sledování růstu při různých teplotách (4 °C či naopak 43 °C); mnohé z nich rostou právě při nízkých teplotách, což souvisí s tím, že jsou to patogeny rostlin. Pro nejběžnější druh *P. aeruginosa* je typická vůně (přirovnává se k jasmínu nebo jahodám) a pigment, který je viditelný hlavně na MH agaru; bývá zelený, ale může být i např. hnědý, modrý či rezavý.

BIOCHEMICKÉ URČENÍ: HAJN nám řekne, že se jedná o GNFB (zůstane červený). Kataláza je +, oxidáza různá: u pseudomonád a burkholderií +, u stenotrofomonád a acinetobakterů -. Dále nám pomůže Nefermtest 24 nebo podobné zahraniční testy. Vzhledem k pomalejší biochemické aktivitě trvají většinou tyto testy 48 hodin. Zvláštností je také teplota inkubace, která není 37 °C, ale 30 °C.

PRŮKAZ ANTIGENU ani NEPŘÍMÝ PRŮKAZ se běžně neprovádí.

TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI se provádí běžně diskovým testem na MH půdě, u rezistentních kmenů ale bývá potřeba ověřit MIC mikrodilučním testem v panelu.

### Terapie

S výjimkou rodu *Pseudomonas* pomáhá cotrimoxazol (septrin), dále chinolony, aminoglykosidy, některé nové peniciliny, některé cefalosporiny III. a IV. generace, nové betalaktamy (imipenem, meropenem), kolistin. Naopak bez užítku je ampicilin, většina ostatních cefalosporinů a spousta dalších antibiotik. I mezi pseudomonádami jsou ale kmeny relativně citlivější (většinou od pacientů mimo nemocnici) a kmeny ještě více rezistentní (nemocniční kmeny, citlivé často jen na jedno dostupné antibiotikum, nebo rezistentní na úplně všechno). Proto jsou nesmírně důležitá hygienická opatření v nemocnicích.

U chronických infekcí se někdy používají autovakcíny a stockvakcíny.

## ČELEĎ PASTEURELLACEAE

### Rod *Haemophilus*

Je to krátká G- tyčinka. Na rozdíl od enterobakterií či gramnegativních nefermentujících tyčinek má drobné kolonie a neroste na Endově agaru, ba dokonce ani na krevním agaru.

### Vlastnosti a přenos

Hemofily jsou poměrně špatně odolné a hodně náročné na živiny. Přesto přežívají v prostředí natolik, že se přenášejí převážně vzduchem a přes předměty. Jejich choulostivost ale ovlivňuje přežívání při transportu: pokud není vzorek doručen hned, nebo je omylem vložen do chladničky, může se stát, že hemofily uhynou.

### Význam a rozdělení

Většina hemofilů má vztah k horním cestám dýchacím. Největší význam má *Haemophilus influenzae*, a to pouze opouzdřené kmeny s pouzdrém antigenního typu (sérotypu) **b**. Ten způsobuje vedle zánětů horních dýchacích cest často i záněty mozkových blan, hlavně u dětí kolem tří let (když začínají chodit do školky a více se setkávají s vrstevníky). Závažné jsou také záněty příklopky hrtanové. Ostatní hemofily - *H. parainfluenzae*, *H. aphrophilus* aj., stejně jako *H. influenzae* bez pouzdra či s jiným typem pouzdra než **b** mohou být nalézány v krku jako běžná flóra. Když je jich ale hodně (ve srovnání s ostatními bakteriemi) mohou i ony být původcem infekce, zvlášť u lidí s narušenou imunitou. Často se přidají k virové infekci (takhle ostatně vzniklo jméno *Haemophilus influenzae* - influenza je totiž latinsky i anglicky chřipka).

*H. ducreyi* je původcem klasické pohlavní nemoci, zvané měkký vřed (ulcus molle - na rozdíl od tvrdého vředu, ulcus durum, u syfilis). U nás se prakticky nevyskytuje.

### Faktory patogenity

Nejvýznamnějším faktorem patogenity je pouzdro (je-li přítomno). Kromě toho se na patogenitě účastí různé pili apod.

### Diagnostika

MIKROSKOPIE: Je to krátká G- tyčinka.

KULTIVACE: Hemofily potřebují k životu některé faktory, které se nalézají uvnitř erytrocytů. Samy však nejsou schopny z erytrocytů příslušné faktory získat, a proto na běžném krevním agaru nerostou. Jedině pokud jiná bakterie (*S. aureus*) erytrocyty naruší a faktory z nich uvolní, hemofil roste, ale jen v těsné blízkosti té jiné bakterie (satelitový fenomén). Hemofily dále rostou např. na čokoládovém agaru, Levinthalově agaru apod. Kolonie jsou drobné a přehlédly by se v krku

mezi běžnou flórou. Tomu brání disk s bacitracinem - hemofily jsou na něj méně citlivé než běžná flóra, takže rostou blíž k disku. Obvykle je nutno nejdřív izolovat čistou kulturu a pak teprve provést druhové určení a atb test.

**DRUHOVÉ URČENÍ.** Zjišťuje se, zda kmen vyžaduje pouze faktor V (*H. parainfluenzae*), faktor X (*H. aphrophilus*) či oba (*H. influenzae*). Na agar se kladou tři disky - s faktorem X, s faktorem V a třetí s oběma. Sleduje se, kde všude hemofil roste.

**ANTIGENNÍ ANALÝZA.** U *H. influenzae* se hledá sérotyp **b**. Používá se latexová aglutinace nebo koaglutinace (viz 2. ročník!). Mimo to se prokazuje antigen přímo z mozkomíšního moku.

**TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKA:** používá se diskový test a musí se provádět na Levinthalově (nebo čokoládovém) agaru. Vyšetření MIC u hemofilů nelze provést, nevyrostly by totiž v médiu, které je v soupravách pro MIC obsaženo.

### **Léčba a prevence**

Používá se ampicilin, azitromycin, cefalosporiny, u zánětů mozkových blan chloramfenikol (dobře proniká do moku).

V prevenci se používá očkování. V poslední době je v Česku součástí základního očkovacího kalendáře. Očkuje se tetravakcínou (čtyřvakcínou), která zároveň obsahuje látky proti tetanu, záškrtu a dávnému kašli.

## **Rod Pasteurella**

### **Vlastnosti a přenos**

Jmenuje se po Louisi Pasteurovi, zakladateli mikrobiologie. Je o něco odolnější než hemofil, což je vidět např. z růstu na více půdách.

### **Význam a rozdělení**

Význam má *P. multocida*, která se nachází v tlamách většiny psů. Může infikovat rány, zejména po pokousání.

### **Diagnostika**

Na rozdíl od hemofila roste i na KA v koloniích, které vypadají podobně jako enterokok (šedé bez hemolýzy) nebo beta hemolytický streptokok (někdy totiž mají slabou betahemolýzu. Páchne ale podobně jako hemofil a prozradí se rezistencí na vankomycin. Když už nevíme kudy kam, pomůže také nátěr.

Na Endově agaru roste pomalu nebo vůbec.

### **Léčba**

Dá se použít penicilin, případně chloramfenikol.

## **OSTATNÍ GRAMNEGATIVNÍ TYČINKY**

### **Legionella**

Jedná o striktně aerobní gramnegativní tyčinky, stejně jako *Brucella*, *Bordetella* a *Francisella*.

### **Vlastnosti a přenos**

Je zvláštní v tom, že roste v obyčejné vodě, stačí jí malé příměsi živin. Na druhé straně na bohatých umělých půdách neroste. Přenáší se nejčastěji vodovody a klimatizací. Mezilidský přenos je vzácný, je však možný (u novorozenců, oslabených osob apod.)

### **Význam a rozdělení**

Byla odhalena teprve v roce 1977 v souvislosti s epidemií na sjezdu Americké Legie ve Filadelfii, při níž zemřelo 34 lidí. Způsobuje buď lehčí, tzv. **pontiackou horečku** (horečka, bolesti svalů a hlavy), nebo těžší, **legionářskou nemoc**, u které se vyvíjí zánět plic, zvracení a průjem a je značná úmrtnost. Postižení jsou oslabení lidé - starší, silní kuřáci, alkoholici, nemocní. Nejdůležitějším druhem je *L. pneumophila*.

### **Faktory patogenity**

Legionely produkují řadu toxinů, avšak jejich význam je zřejmě omezený. Nákaza obvykle vdechnutím.

### **Diagnostika**

KULTIVACE vyžaduje speciální půdu s kvasinkovým extraktem - **BCYE**. ANTIGENNÍ ANALÝZA se provádí přímou imunofluorescencí nebo ELISou. Provádí se také NEPŘÍMÝ PRŮKAZ (serologický) - imunofluorescence, mikroaglutinace, ELISA. Lze použít také GENETICKÉ METODY.

### **Léčba**

Nejlépeší je erytromycin.

## **Brucella**

### **Vlastnosti**

Brucely jsou přizpůsobeny nitrobuněčnému životu, vyžadují mnoho růstových faktorů. Člověk se nakazí při práci se zvířaty, obvykle oděrkou.

### **Význam a rozdělení**

Typické zvířecí onemocnění. Ze šesti druhů má pro člověka význam hlavně *B. abortus* (prvotně postihuje hovězí dobytek), *B. suis* (prasata) a *B. melitensis* (ovce a kozy). Brucely rostou vydatně hlavně tam, kde je látka, zvaná erythritol - a to bývá v placentě. Proto u dobytka *B.* způsobuje potraty. U člověka postihuje kůži, mizní uzliny a druhotně pak nejrůznější vnitřní orgány (slezina, játra, ledviny, vnitřní pohlavní orgány). Onemocnění se nazývá **vlnivá horečka** (podle průběhu teploty).

### **Faktory patogenity**

Především lipid A - endotoxin (jako u enterobakterií).

### **Diagnostika**

KULTIVACE hemokultur se dělá na Castañedově dvoufázovém médiu nebo ve žlutkovém vaku kuřecích embryí. SEROLOGIE - aglutinace. Dále TESTY BUNĚČNÉ IMUNITY (kožní test přecitlivělosti, podobně jako u tuberkulózy).

### **Léčba**

Tetracyklin, co-trimoxazol (septrin).

## **Francisella**

### **Přenos**

Zdrojem jsou nejčastěji zajícovci a někteří hlodavci - přímo nebo přes vodu, seno apod.

### **Význam a rozdělení**

Jediný druh *F. tularensis* je původcem tularemie - "zaječího moru". U člověka mikrob proniká kůží (i neporušenou!!) nebo vdechnutím. Postižení jsou zemědělci a lidé stahující zajíce. Nemoc má různé formy. Postiženy bývají uzliny, oči, u požití mikrobů trávící ústrojí, u vdechnutí plíce.

### **Diagnostika**

KULTIVACE vyžaduje např. KA s glukózou a cysteinem, který je důležitým růstovým faktorem, nebo žloutkový vak. Užívá se i POKUS NA ZVÍŘETI. SEROLOGIE - ELISA.

### **Léčba**

Streptomycin, tetracykliny.

## **Bordetella**

### **Přenos**

Kapénková infekce

### **Význam a rozdělení**

*B. pertussis* a *B. parapertussis* způsobují dávivý kašel - dětské onemocnění. Má fázi katarální (necharakteristický kašel) a záchvatovitou (série záchvatů, dušnost, modráni), trvá několik týdnů. *B. bronchiseptica* způsobuje vzácně infekce plic a ran.

### **Faktory patogenity**

Především pertusový toxin. Má nejen místní vliv, ale i celkový - ovlivňuje mozek, má i hormon. aktivitu. Mimo to tzv. letální toxin, tracheální cytotoxin a též endotoxin.

### **Diagnostika**

KULTIVACE na Bordet-Gengouově půdě. Nejlepším materiálem je vzorek z nosohltanu, odebraný tamponem na drátu přes nos. *B. pertussis* je náročná, vyroste až za dva dny, *B. parapertussis* už za den. SEROLOGIE - aglutinace, precipitace, KFR.

### **Léčba a prevence.**

U *B. pertussis* se provádí povinné očkování dětí. Očkovací látka je celá mrtvá bakterie, pracuje se na očkovací látce, který by obsahovala pouze část (např. inaktivovaný toxin). Očkuje se trojkombinací (spolu se záškrtem a tetanem). V léčbě lze použít imunoglobulin, z antibiotik chloramfenikol, erytromycin, ampicilin.

## **Campylobacter**

Jedná se o gramnegativní zahnuté tyčinky, oxidáza a kataláza pozitivní, striktně aerobní a zároveň kapnofilní (vyžaduje  $\uparrow$  CO<sub>2</sub>)

### **Vlastnosti a přenos**



Campylobacter je především ptačí patogen, to znamená, že se nakazíme zejména z drůbežního masa; také to znamená, že je přizpůsoben tělesné teplotě ptáků, a proto je jeho růstové optimum (ideální teplota) 42 °C.

### **Význam a rozdělení**

Nejvýznamnějším druhem je *Campylobacter jejuni*. Jedná se o původce průjmových onemocnění, která jsou stále častější. V posledních letech dostihl a již téměř předstihl salmonelu.

### **Diagnostika**

VZORKEM bývá stolice ve formě výtěru z řiti. Je naprosto nezbytné použití transportní půdy, stačí běžná půda, např. Amiesova.

MIKROSKOPIE je významná. Pomoci může nativní preparát, protože kampylobaktery se velice aktivně pohybují. V Gramově barvení se jedná o tenké, zahnuté, gramnegativní tyčinky.

KULTIVACE je možná jen na speciálních půdách. Používá se černá půda, která nemá název ("půda pro kampylobaktery"). Kampylobaktery se na ní kultivují 48 hodin při zvýšené tenzi CO<sub>2</sub> a při zvýšené teplotě (42 °C).

BIOCHEMICKY je důležitá především pozitivní oxidáza.

JINÉ TESTY se nepoužívají, test citlivosti na antibiotika se běžně neprovádí.

### **Léčba**

Stejně jako u enterobaktérií, ani v tomto případě se nedoporučuje nasazovat antibiotika u nekomplikovaného onemocnění. Je-li nutno, dá se použít např. ampicilin.

## **Helicobacter**

Byl objeven v roce 1983. Nejdříve byl považován jen za zvláštní druh kampylobaktera. Liší se však od něj tím, že není jen zahnutý, ale je zohýbaný několikrát do vlnovky (nejde ovšem u spirálu jako u spirochet). Také on je kataláza a oxidáza pozitivní.

### **Vlastnosti a přenos**

Helikobakter je přizpůsoben velmi extrémním podmínkám v žaludku. Kyselému pH vzdoruje hlavně tím, že štěpí močovinu na CO<sub>2</sub> a amoniak; kyselý CO<sub>2</sub> vyprchá, zásaditý amoniak zůstává. Tím helikobakter snižuje kyselost prostředí ve svém okolí. - Přenos je zřejmě fekálně orální, i když není příliš jasné, jak snadno či nespodno se vlastně helikobaktery přenáší.

### **Význam a rozdělení**

Jediný opravdu významný druh je *Helicobacter pylori*, který se vyskytuje v žaludku lidí s žaludečními vředy, s náběhem na ně, ale i v žaludku zdravých lidí. Stále není úplně jasné, do jaké míry se na vzniku vředů podílí helikobakter, a do jaké jiné vlivy (dědičná zátěž, stres, nesprávná výživa a podobně).

### **Faktory virulence**

Významné jsou různé adhesiny a dále prozánětlivé faktory.

### **Diagnostika**

VZORKY. Používá se většinou kousek sliznice vyštípnutý při tzv. endoskopické biopsii (do žaludku se zavede gastrofibroskop). U průkazu antigenu se dá použít stolice.

MIKROSKOPIE. Je to gramnegativní zrohýbaná tyčinka.

KULTIVACE. Kultivuje se na půdě podobná jako je ta pro kampylobaktery, také podmínky jsou podobné. Kultivace trvá až pět dní, tedy ještě déle než u kampylobaktera.

BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE je velice důležitá, především průkaz ureázové aktivity (štěpení močoviny). Je to jediná výjimka z pravidla, že k biochemické identifikaci nelze použít vzorek. Tady se vzorek používá, protože za masivní ureázovou aktivitu nemůže být zodpovědného nic jiného než právě helikobakter. Ještě bizarnější je takzvaný ureázový dechový test (urea breath test). Je to vlastně jediný biochemický test, na který je zapotřebí celý pacient. Pacientovi podáme močovinu značenou radioizotopem uhlíku. Pokud není helikobakter přítomen, projde urea beze změny trávicím traktem. Pokud přítomen je, štěpí ureu a ve vydechaných plynech lze prokázat CO<sub>2</sub> obsahující radioaktivní uhlík.

PRŮKAZ ANTIGENU ve stolici, např. metodou ELISA, patří k moderním metodám, stejně jako PRŮKAZ PROTILÁTEK, rovněž metodou ELISA.

PRŮKAZ DNA metodou PCR je další možností.

## Léčba

Léčba žaludečních vředů je složitá, vždycky je potřeba léčit všechny složky zároveň. Pokud je ovšem přítomen helikobakter, měla by obsahovat antibiotika. Osvědčila se kombinace amoxicilinu, metronidazolu a solí vizmutu.

## STRIKTNÍ ANAEROBY

### Nesporulující anaeroby

#### Vlastnosti a přenos

Anaeroby jsou více nebo méně citlivé na kyslík. Tomu se musí přizpůsobit i odběr materiálu (obvykle stříkačka s jehlou zabodnutou do gumové zátky). Nesporulující anaeroby se mezi lidmi přenášejí zřídka, většina infekcí je endogenních. Z míst, kde se anaeroby přirozeně nacházejí (tj. ústa, střevo a pochva), se mohou dostat do sousedních tkání, anebo krví do celého těla.

#### Rozdělení a význam

Infekce způsobené nesporulujícími anaeroby jsou téměř vždy smíšené, účastní se mnoho různých druhů anaerobů, případně i ve směsi s fakultativními anaeroby.

**G+ TYČINKY:** Na pomezí mezi striktními a fakultativními anaeroby leží rody *Lactobacillus* a *Actinomyces*, které se probraly zvlášť. Dále sem patří:

*Bifidobacterium* - uplatňuje se při zubním kazu, jinak využití v mléčném průmyslu (je v jogurtech, i běžných!)

*Propionibacterium* - *P. acnei* má význam při vzniku akné.

**G- TYČINKY:**

*Bacteroides* - např. *B. fragilis*, osidluje hlavně střevo, poměrně často nalézán při anaerobních sepsích (po operacích břicha). *Bacteroides* je hodně rezistentní ke žluči. Málo štěpí cukry, neúčinkuje na peni- ani ampicilin.

*Prevotella* - např. *P. melaninogenica*, osidluje hlavně ústní dutinu, může se účastnit na infekcích hlavy a krku, při vdechnutí zvratků i na zánětech plic. Na rozdíl od *Bacteroidů* štěpí cukry, není rezistentní ke žluči, PNC účinkuje

*Porphyromonas* - např. *P. gingivalis*, osidluje hlavně ústa a pochvu. Cukry neštěpí, produkuje černý pigment.

*Fusobacterium* - Osidlují ústa i střevo. Spolu s jedním druhem borrelie se účastní na vzniku Plaut-Vincentovy angíny - závažného onemocnění oslabených osob, a jiných infekcí.

*Mobiluncus* - česky vlastně "pohyblivý háček" - účastní se nespecifických zánětů pochvy, označovaných jako "vaginózy". Dříve byl označován jako "poševní vibrio".

**G+ KOKY:**

*Peptococcus* a *Peptostreptococcus* - účastní se na smíšených anaerobních infekcích, zdá se, že jsou o něco patogennější než většina ostatních nesporulujících anaerobů

#### G- KOKY

*Veillonella* - osidluje především ústa, rovněž se účastní při smíšených infekcích

### **Faktory patogenity**

Různé endotoxiny a lytické enzymy. Není zcela jasné.

### **Diagnostika**

MIKROSKOPIE je velice užitečná - mnohé anaeroby jsou různotvaré. Bakteroidy, prevotelly a porfyromonády mají kulaté konce, kdežto fusobaktéria mají konce špičaté a celé mívají tvar vřetene až hodinek. Ztlustělé místo se v tomto případě zbarví, na rozdíl od nebarvící se spóry.

KULTIVACE: používá se především VL-bujón a VL-agar. Nezbytný je anaerostat nebo anaerobní box. V dnešní době se ovšem kultivace automatizuje, používají se speciální nádoby, do kterých klinik krev odebere, a v laboratoři se už jen vsunou do automatu. Zde je nárůst bakterií signalizován např. na základě změny pH.

BIOCHEMIE: užívá se ANAEROTest 23 Lachema a odpovídající zahraniční testy. Nutno doplnit mikroskopii.

POZNÁMKA: Často se neurčují anaeroby příliš podrobně. Je to i proto, že většinou je patogenní působení dáno nikoli jedním druhem, ale směsí několika.

### **Léčba**

Používá se hlavně klindamycin nebo metronidazol, často v kombinaci s dalším antibiotikem, které pokryje doprovodnou fakultativně anaerobní flóru.

## **Rod *Clostridium***

### **Vlastnosti a přenos**

Oproti ostatním, nesporulujícím anaerobům je u rodu *Clostridium* jeden zásadní rozdíl: ve formě spor vydrží nejen na kyslíku, ale dokonce i v hodně extrémních podmínkách. Proto se klostridia přenášejí nejen v rámci organismu. Při práci v zemi, při úrazech znečištěných zaminou apod. se mohou spory dostat do těla. V některých případech je ale přenos fekálně-orální, anebo vůbec nejde k infekci, nýbrž k bakteriální intoxikaci (člověk se nenakazí, jen zkonsumuje toxin).

### **Rozdělení, význam a faktory virulence**

CLOSTRIDIUM BOTULINUM produkuje botulotoxin. Nedochozí k infekcím, onemocnění má charakter alimentární intoxikace (otravy). Člověk se většinou otráví podomácku vyrobenými konzervami, hlavně masovými, případně u některých druhů konzervované zeleniny. Ovoce je méně rizikové, protože je kyselé, a nízké pH toxin ničí. Onemocnění se projeví hlavně obrnami (parézami)

CLOSTRIDIUM TETANI způsobuje tetanus. V tomto případě sice dochází k infekci, ale důležité je zase působení toxinu. Člověk se zraní např. o špinavý trn, zemědělský nástroj (nejrizikovější jsou vidle, protože těmi se přehazuje hnůj) a do rány si vnese klostridia. Vznikne nevelké ložisko infekce, samo o sobě nevýznamné. Významné ale je, že z ložiska se šíří tetanický toxin. Stejně jako botulotoxin je to neurotoxin, ale působí opačně: ne obrny, ale naopak křeče svalstva.

KLOSTRIDIA PLYNATÝCH SNĚTÍ, například *Clostridium perfringens* (ale i několik dalších druhů) mají na svědomí dva typy lidských onemocnění:

a) Plynatá sněť je především válečné onemocnění. V míru se může přihodit např. při zemětřesení a podobných katastrofách. Úraz jednak přesekne zásobení tkáně krví (a tedy i

kyslíkem), jednak zároveň vnese do tkáně klostridia. Vznikne rozsáhlé ložisko, které kromě klostridií obsahuje také plynné produkty. Když se na postižené místo (obvykle končetinu) klepne prstem, ozve se zvuk praskání bublin plynu

b) Různé formy zánětů tenkého a tlustého střeva, které jsou způsobené enterotoxiny. Ovšem pozor! Tato klostridia se vyskytují ve střevě i za normálních podmínek, důležité tedy není, jestli tam jsou, ale jestli ten kmen, co tam je, produkuje nebo neprodukuje toxin.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE způsobuje také zánět tlustého střeva, takzvanou pseudomembránovou kolitidu. Nejčastěji k ní dojde tak, že se jedná o pacienta, který má toto klostridium v malém množství ve střevě. Když potom pacient - třeba kvůli zánětu kloubů - pojídá linkosamidová antibiotika, vybijí všechnu běžnou flóru kromě *Clostridium difficile* (to je jako jeden z mála anaerobů rezistentní).

## **Diagnostika**

MIKROSKOPIE prokáže dlouhé a tlusté tyčinky. Spóry mohou a nemusí být viditelné - některá klostridia tvoří spory jen tehdy, když se dostanou do nepříznivých podmínek. - Pokud je spóra (endospóra) přítomna, je důležité všimnout si, jestli je uprostřed vegetativní buňky, na konci nebo "někde mezi". Umístění spory na konci ("palička na buben") je typické pro *Clostridium tetani*.

KULTIVACE na VL agaru prokáže nepravidelné, většinou šedé kolonie. Některé druhy, např. *Clostridium perfringens*, mají typickou hemolýzu. - Používají se některé speciální agarové půdy, například k průkazu toxin produkujícího *C. perfringens* se používá žlutkový agar. Očkuje se ve formě čáry. Když se jedná o toxický kmen klostridia, vznikne v okolí kultivační čáry zákal (precipitace). Abychom zajistili, že jsme neprokázali nějaký jiný toxin (třeba nějaké jiné bakterie), ošetříme před kultivací polovinu povrchu půdy specifickým antitoxinem. "Správný" toxin dělá zákal jen na neošetřené polovině. Pokud zákal není, nebo je naopak na obou půlkách, bere se to jako negativní.

Některá klostridia se kultivovat téměř nedají, protože jim vadí i maličká troška kyslíku. Takovým klostridiím říkáme EOS ("extremely oxygen sensitive", extrémně citlivá na kyslík).

BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE pomocí Anaerotestu 23 může při identifikaci pomoci.

POKUS NE ZVÍŘETI připadá stále ještě v úvahu u tetanu a botulismu. Myš uhynie, u botulismu je celá svěšená, u tetanu naopak napružená a má vztyčený ocas.

PRŮKAZ ANTIGENU se používá hlavně jako průkaz toxinů *C. perfringens* a *C. difficile* ve stolici.

## **Léčba a prevence**

U tetanu a botulismu se v léčbě a profylaxi používá především pasivní imunizace specifickým antitoxinem.

U tetanu se provádí prevence očkováním - v dětství jako čtyřkombinace, v dospělosti po deseti letech jednotlivé očkování.

V léčbě plynaté sněti se používá chirurgický zásah (otevření a okysličení ložiska, desinfekce) a samozřejmě antibiotika, například penicilin, ampicilin se sulbaktamem, linkosamidy. V profylaxi se používá specifický antitoxin. Enterotoxikózy se řeší antibiotiky.

U *C. difficile* se používá vankomycin. Je k dispozici jen v injekčních ampulích, ale v tomto případě se dá pacientovi ampule vypít. Vankomycin se nevstřebává a působí ve střevě místně.

## **Mykobakteria**

Jsou to tyčinky, které se nebarví gramovým barvením. Jsou odolné vůči odbarvení kyselinami a zároveň také odolné vůči kyselinám jako takovým - proto se jim říká acidoresistentní. (V menší míře mají tuto vlastnost také někt. nocardie a korynebakteria).

## Vlastnosti a přenos

Mykobakteria dobře snáší vnější změny, zejména vyschnutí. Jsou také odolná na většinu antibiotik a na mnohé desinfekční prostředky. Přenáší se vzduchem; postprimární TBC vzniká jako endogenní (tj. pacient nakazí "sám sebe" - "probudí" spící mikroby. Mykobakteria velmi pomalu rostou, (dlouhá generační doba - u TBC asi 20 hodin, u lepry několik týdnů).

U zdravých jsou možnosti přenosu TBC malé, riziko se zvyšuje při špatném celkovém stavu (špatná výživa za války, AIDS).

## Význam a rozdělení

Mykobakteria působí zvláštní skupinu chorob, které se v mnohém liší od jiných bakteriálních chorob. Významně ovlivňují imunitu a mnohé projevy nemoci jsou vlastně alergické reakce (pozdní přecitlivělost).

TUBERKULÓZA je způsobena *Mycobacterium tuberculosis* (čistě lidská) nebo *M. bovis* (z dobytka) Obvykle se jedná o plicní onemocnění, ale může se vyskytnout i postižení jiných orgánů (kosti, trávicí ústrojí). Tuberkulóza se projeví při prvním kontaktu obvykle jako tzv. primární komplex - zánětlivé ložisko + zvětšené uzliny. Po letech se může (ale nemusí) tuberkulóza obnovit jako tzv. postprimární tuberkulóza. Tuberkulóza je na světě velice rozšířena, nakaženo je asi 1,7 miliard osob. *M. tuberculosis* je čistě lidský patogen.

Jako "MYKOBACTERIÓZY" se občas označují onemocnění způsobená jinými mykobakteriemi než *M. tuberculosis* a *M. bovis* - např. *M. avium-intracellulare*, *M. kansasii*. Probíhají do jisté míry podobně jako tuberkulóza, ale jsou rezistentnější na léky. Tato mykobakteria se mohou vyskytovat u zvířat nebo i v prostředí.

LEPRA, způsobená *M. leprae* probíhá velmi pomalu. Má formu tuberkulózní, kdy na kůži vznikají ohraničená ložiska, a formu lepromatózní, kdy dochází kromě znečištění periferních nervů také k deformaci tkání. Vzniká typická "lví tvář" - facies leontina.

## Faktory patogenity

Mykobakteria jsou povinně nitrobuněční paraziti. Jejich přítomnost vyvolává značnou odezvu buněčné imunity - podobně jako u virů. Důležitým faktorem patogenity je glykoprotein, tzv. Cord-faktor.

## Diagnostika

MIKROSKOPIE. Provádí se barvení za horka podle Ziehl-Nielsena (čti cíl nýlsna).

KULTIVACE. Používá se speciálních půd - např. pevná půda Löwenstein-Jenssenova a tekutá půda Ogawova. Aby mykobakterie nepřerostly jiné bakterie, provádí se před začátkem kultivace tzv. moření vzorku - tj. odstranění běžných bakterií. Výsledek kultivace se pak zpravidla hodnotí po 3, 6 a 9 týdnech kultivace. Některá tzv. "rychle rostoucí mykobakteria" se mohou množit i rychleji a tvoří kolonie po 2 - 7 dnech. Naopak *M. leprae* roste ještě pomaleji a nedá se kultivovat prakticky vůbec. Před nedávnem se podařilo *M. leprae* vykultivovat (po asi 50 týdnech).

S kultivací souvisí TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI na antituberkulotika. To nelze provádět diskovým testem - provádí se příměsí jednoho či více antituberkulotik v kultivačním médiu v určité kombinaci a koncentraci.

GENETICKÉ METODY. Metodou PCR lze prokázat DNA mykobakterií dokonce i ze vzorků několik staletí starých.

SEROLOGIE nemá příliš velký význam (u TBC je imunita spíše buněčná než protilátková)

OVĚŘENÍ STAVU IMUNITY se provádí přímo na osobách, a to pomocí kožního testu. V případě pozitivity se vytvoří zánětlivá reakce v místě, kam byl vstříknut tuberkulin, resp. lepromin (antigeny mykobakterií).

## Léčba a prevence

Protože běžná antibiotika obvykle u tuberkulózy nezabírají, používají se tzv. antituberkulotika, obvykle v kombinaci 3 - 4 látek - např. isoniazid, rifampicin, pyrazinamid a ethambutol. U "mykobakterióz" je větší podíl rezistentních kmenů. U lepry se používá speciální lék - dapson. - Očkování se provádí v prvním týdnu života.

## SPIROCHETY

Spirochety jsou spirální bakterie - nepatří tedy mezi ani mezi koky, ani mezi tyčinky. Také se nebarví podle Grama, i když mají blíž ke G- baktériím než ke gram pozitivním

## Treponema

Je to 5 - 20 µm dlouhá spirocheta s pravidelnými závití.

### Přenos a vlastnosti

*Treponema pallidum* (viz dále) je velmi citlivé na vnější prostředí. U ostatních treponemat je odolnost větší. Přenos je u *T. pallidum* pouze pohlavní, u ostatních treponemat i nepohlavním kontaktem, hmyzem a podobně.

### Význam a rozdělení

*Treponema pallidum* způsobuje syfilis (lues), smrtelnou nemoc, která se hojně vyskytuje i v dnešním Česku. Oproti kapavce je to spíše nemoc "profesionálek" než "nadšených amatérek". Nemoc má tři stádia: 1) místní projevy (tvrdý vřed, zvětšené uzliny), 2) celková infekce - projevuje se vyrážkou, 3) orgánové změny - nevratné poškození cév, mozku, míchy a podobně. První dvě stádia jsou vysoce nakažlivá, třetí již méně. Treponemata pronikají placentou, dojde k potratu anebo k postižení plodu.

*Treponema pertense* a *T. carateum* způsobují tropická kožní onemocnění. U nás se nevyskytují.

Nepatogenní treponemata jsou součástí běžné flóry v ústech a v přirození. Mohou být příčinou falešně pozitivních serologických reakcí na syfilis.

### Faktory virulence

Virulentní kmeny jsou obaleny slizovou vrstvou, která je chrání před likvidací. Chorobné změny jsou dány zejména komplexy antigenů s protilátkami a buněčnou přecitlivělostí.

### Diagnostika

MIKROSKOPIE: 1) Nativní preparát v zástinu 2) Fixované stříbřené preparáty 3) Přímá imunofluorescence (navázání fluorescenčně značených specifických protilátek na prokazovaný kmen)

PCR a jiné genetické metody se zvolna prosazují do diagnostiky

JINÉ PŘÍMÉ METODY NELZE POUŽÍT. Treponemata nerostou na kultivačních půdách, ale ani na tkáňových kulturách pro viry.

NEPŘÍMÝ SEROLOGICKÝ PRŮKAZ se člení na nespecifické (netreponemové) testy, ve kterých je antigenem místo treponemy tzv. kardiolipin, a testy treponemové. Z následujících jsou netreponemové testy ad 1) a 2).

1) BWR je klasická komplementfixace, která se dnes už prakticky nepoužívá. 2) RRR je precipitace, stále používaná. 3) TPHA(T) je *Treponema pallidum* hemaglutinační test. Erytrocyty jsou jen pasivním nosičem antigenu (treponemat). 4) Nepřímá fluorescence je dobrá, ale náročná metoda. 5) TPIT neboli Nelsonův test je vlastně neutralizace. Speciální, tzv. Reiterův kmen treponematu, se pěstuje na králíčích varlatech. Poté se smíchá se sérem pacienta.

Obsahuje-li sérum protilátky, přestanou se treponemata hýbat (proto imobilizační test). 6) ELISA a Western Blotting postupně nahrazují TPIT i jiné klasické testy.

### **Prevence a léčba**

Očkování neexistuje, prevencí je nesouložit, případně souložit s rozumem (a kondomem) v hrsti. Léčebně se stále používá klasický penicilín ve vysokých dávkách. Pouze při alergii na něj se používají tetracykliny a jiná antibiotika.

## **Leptospira**

Je to další pohyblivá spirocheta s pravidelnými závity.

### **Vlastnosti a přenos**

Jsou odolnější než treponemata. Zdrojem jsou infikovaná zvířata (krysy, potkani, hraboši, myši), člověk se nakazí kontaminovanou vodou, potravinami, kousnutím. Leptospiry mohou pronikat i kůží.

### **Význam a rozdělení**

Dnes se uznává jediný patogenní druh - *Leptospira interrogans* (druh *Leptospira biflexa* je nepatogenní). To, co se dříve označovalo za druhy, jsou dnes jen serotypy. Závažný serotyp *icterohaemorrhagiae* vyvolává Weilovu chorobu (žloutenka, krvácení, poškození ledvin, těžký stav někdy končící smrtí), typ *grippotyphosa* blafáckou horečku (něco mezi chřipkou a tyfem).

### **Faktory virulence**

Nejsou zcela prozkoumány. Patří k nim stěnový lipopolysacharid (endotoxin G- bakterií) a některé exotoxiny.

### **Diagnostika**

Na rozdíl od treponemat se dají kultivovat na speciálních půdách při teplotách 28 až 32 °C. Pěstují se také na kuřecích embryích. Nicméně i u leptospir má klíčový význam SEROLOGIE, zejména KFR a ELISA.

### **Léčba**

Penicilín. Antibiotická terapie nezabírá vždy dokonale.

## **Borrelia**

Na rozdíl od předchozích má nepravidelné závity (5 - 10), délka do 30 μm. Lze ji barvit Giemsovým barvením.

### **Vlastnosti a přenos**

Jejich odolnost vůči vnějšímu prostředí není velká. Zdrojem jsou nejrůznější zvířata (hlavně hlodavci). Důležitý je přenos členovci. Mezi druhem borelie a druhem přenašeče je zpravidla vztah.

### **Význam a rozdělení**

*Borrelia recurrentis* a *Borrelia duttoni* způsobují návratnou horečku. Přenašečem je veš šatní. *Borrelia recurrentis* se vyskytuje i na jihu Evropy. *B. duttoni* pouze v tropech. Při nemoci je zvětšená sleziba a játra. Horečky trvají několik dnů, pak ojejdou a vrátí se.

*Borrelia burgdorferi* sensu lato (= v širším slova smyslu) vlastně zahrnuje čtyři klíčatý přenášené druhy, způsobující Lyme: *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (= v užším slova smyslu), *B. garinii*, *B. afzelii* a *B. japonica*. U nás se vyskytuje hlavně druhá a třetí z nich; jejich příznaky bývají nervové. V USA se vyskytuje spíš první z nich a příznaky bývají kloubní. Nemoc má tři stádia, od nespecifických ke specifickým. Klasickým příznakem jsou stěhovavé červečné skvrny (erythema chronicum migrans).

*Borrelia vincenti* se s fuzobaktérií podílí na vzniku Plaut-vincentovy angíny.

### **Faktory virulence**

Patří k nim vedle aktivního pohybu opět endotoxin.

### **Diagnostika**

MIKROSKOPIE z krve v zástinu, fluoresc. či jiném barvení

KULTIVACE je možná, ale tak obtížná, že se nepoužívá

GENETICKÉ METODY se velice rychle rozvíjejí

SEROLOGIE zahrnuje vedle nepřímé imunofluorescence také různé varianty metody ELISA.

U návratné horečky se používá aglutinace, jako nespecifický antigen slouže kmen *Proteus*. Mohou být falešně pozitivní, zvláště při infekci syfilis. U borreliózy také nelze spoléhat na IgG a IgM protilátky - sice se zjišťují, nicméně často nález neodpovídá (IgM přítomny u staré infekce, chybějí u aktuální apod.)

### **Léčba**

Amoxicilin, tetracykliny a jiné.

### **Mykoplasmata**

Jsou to bakterie, které se zařazují do zvláštní skupiny (*Mollicutes* - tedy "ty s měkkou kůží"), protože nemají buněčnou stěnu. To také znamená, že nelze stanovit jejich tvar, který může být kulatý, oválný či vláknitý. U člověka jsou významné dva rody: MYCOPLASMA a UREAPLASMA. Zároveň jsou to nejmenší organismy, které ke svému růstu nepotřebují cizí buňku. Jsou několikrát menší než běžné bakterie. Historicky se jim původně říkalo PPLO organismy (protože první objevené mykoplazma bylo původcem kravské pleuropneumonie - tedy PleuroPneumonia Like Organism). Do jisté míry podobné jsou jim L-formy bakterií; to jsou však pouze přechodné bezstěnné formy života některých bakterií.

### **Význam a rozdělení**

MYCOPLASMA PNEUMONIAE je původcem zánětů plic - tzv. atypických pneumonií. Atypické se jim říká proto, že na rozdíl od běžných u nich není příliš výrazný nález při běžném vyšetření, ale zato je výrazný nález na rentgenu. Choroba neprobíhá ani tak v plicních sklípcích, jako spíš ve tkáni mezi sklípkami. Mohou nastat i mimoplicní komplikace (srdeční, nervové a jiné). Často ale naopak nemoc proběhne jen jako rýma nebo úplně bez příznaků.

MYCOPLASMA HOMINIS a UREAPLASMA UREALYTICUM jsou důležitými původci zánětů pohlavních orgánů - pochvy, močové trubice aj. Jsou pohlavně přenosné.

MYCOPLASMA GENITALIUM se nalézá také na pohlavních orgánech, není ale jasné, jestli je spíš normální flórou, nebo patogenem.

MYCOPLASMA PENETRANS se vyskytuje u nemocných AIDS a zřejmě se podílí na jeho průběhu.

### **Vlastnosti a přenos**

Mykoplasmata jsou citlivá např. na zahřátí a vyschnutí, na druhé straně dlouho vydrží ve vzduchu v kapáncích (zejména *M. pneumoniae*). Přenos u *M. pneumoniae* vzduchem, u dalších pohlavní.



## **Faktory patogenity**

Nejvýznamnější je schopnost pevně přilnout na hostitelskou buňku. V místě přilnutí jsou chráněny různé látky, produkované mykoplazmatem (např. peroxid vodíku) před účinkem enzymů (např. katalázy).

## **Diagnostika**

KULTIVUJÍ SE na speciálních půdách - takzvané PPLO půdy (agar a bujon). Rostou tam velice pomalu. Kromě *M. pneumoniae* tvoří na agarové půdě obvykle kolonie vzhledu sázeného vejce. Používá se vždy transportního média.

NEPŘÍMÁ DIAGNOSTIKA se provádí KFR, ELISou nebo testem inhibice metabolismu glukózy (tzv. MIT test). U atypických pneumonií se provádí serologie mykoplazmat obvykle zároveň se serologií respiračních virů, které mohou vyvolat podobný obraz onemocnění.

## **Léčba**

Nelze použít antibiotika, působící na buněčnou stěnu. Účinné jsou makrolidy (tj. erytromycin a spol.) a tetracykliny. U *M. pneumoniae* se zkouší očkování - zatím ve stádiu výzkumů.

## **Chlamydie**

Spolu s rickettsiemi (a jim příbuznými organismy) představují chlamydie povinně nitrobuněčné parazity. Chovají se tedy trochu podobně jako viry, ale jsou to přece jen bakterie, v mnohém blízké gramnegativním. Od plnohodnotné bakterie, která si dokáže všechno vyrobit sama, se liší především tím, že si nedovedou vyrobit ATP. Mají ale buněčnou stěnu.

## **Význam a rozdělení**

CHLAMYDIA TRACHOMATIS vyvolává rozličná onemocnění v závislosti na serotypu.

- Serotypy *L*<sub>1</sub>, *L*<sub>2</sub>, *La*<sub>2</sub> a *L*<sub>3</sub> vyvolávají pohlavní nemoc - lymphogranuloma venereum. Postižení jsou hlavně obyvatelé tropů. Začíná vředy, pokračuje zduřením tříselných uzlin a může končit deformujícím zánětem pohlavních orgánů a konečníku.
- Serotypy *D* až *K* způsobují pohlavně přenosná onemocnění ve vyspělých zemích. Mnohé infekce probíhají bez příznaků, ale jsou možné záněty různých částí pohlavního ústrojí muže i ženy včetně možnosti vzniku neplodnosti. Záněty nemají typické příznaky, jaké má lymphogranuloma venereum. - Tyto serotypy kromě toho mohou způsobit záněty spojivky - paratrachom. Kromě novorozenců není příliš závažný.
- Serotypy *A*, *B*, *Ba* a *C* způsobují trachom - nejčastější příčinu slepoty v rozvojových zemích. V současné době je postižen téměř každý desátý obyvatel zeměkoule (tj. asi půl miliardy lidí!). Začíná jako zánět spojivek. Slepota přichází postupně, během 25 - 30 let. Přenáší se dotykem, případně pomocí nescifických přenašečů (zpravidla mouchy).

CHLAMYDIA PNEUMONIAE způsobuje především onemocnění dýchacích cest, od rým a zánětů dutin až po záněty plic.

CHLAMYDIA PSITTACI způsobuje ptačí nemoc - ornitózu, nebo závažnější papouščí nemoc - psitakózu. Důležité je postižení dýchacích cest, ale postižená bývají i např. játra. Nemoc se vyskytuje u chovatelů ptáků, ale i savců. Je odolnější vůči vyschnutí než jiné chl., takže se může přenášet snadno trusem ptáků.

## **Vlastnosti a přenos**

Nejsou příliš odolné ani vůči teplotě, ani vůči vyschnutí či desinfekčním prostředkům - liší se ovšem druh od druhu. Přenos podle druhu kapénkovou inf., přímým kontaktem nebo pohlavně.

## **Patogenita**

Chlamydie (i rickettsie) se chovají podobně jako viry v tom smyslu, že se nechají pohltnout hostitelskou buňkou, v ní se namnoží a pak jsou z buňky vypuzeny nebo jí rozloží.

### **Diagnostika**

MIKROSKOPIE s použitím speciálních barviv je možná, ale běžně se neprovádí. Gramem se nebarví.

Pro KULTIVAČNÍ průkaz je třeba použít speciální odběrové médium. Kultivace se provádí na buněčných kulturách (podobně, jako u virů) a pozorují se na nich buněčné inkluze.

PRŮKAZ ANTIGENU se provádí např. ELISou.

SEROLOGIE se provádí častěji, a to pomocí KFR a ELISA.

GENETICKÉ METODY nabývají na důležitosti - genová sonda, PCR (polymerázová řetězová reakce), LCR (ligázová ř. r.).

### **Léčba**

Tetracykliny, makrolidy

## **Rickettsie a spol.**

Podobně jako chlamydie odebírají i rickettsie z hostitelských buněk ATP a navíc i jiné živiny. Jsou rovněž povinně nitrobuněčnými parazity. - Při výzkumu rickettsií přispěl badatel českého původu Prowazek.

### **Význam a rozdělení**

Některí příslušníci rodu RICKETTSIA způsobují onemocnění označovaná jako "tyfus" - nejvýznamnější je tzv. skvrnitý tyfus, vyvolávaný *R. prowazeki*. Projevuje se vyrážkou, vysokou horečkou a dalšími příznaky. Smrtí velice často. Vyskytuje se za válek apod. - i u nás za světových válek. Po letech může dojít k pozdnímu vzplanutí - tzv. Brill-Zinserova choroba. Jiné rickettsie způsobují tzv. purpurové horečky (např. horčka Skalistých hor). Některé z nich se možná vyskytují i u nás, ale málo se o tom ví.

Rod ROCHALIMEA vyvolává např. zákopovou horečku a snad i nemoc z kočičího škrábnutí.

Rod EHRLICHIA vyvolávají nemoci, postihující hlavně bílé krvinky. V USA se stávají třetí obávanou klišťaty přenášenou nemocí (vedle virového zánětu mozku a lymeské borreliózy).

Rod COXIELLA způsobuje plicní choroby s horečkou - tzv. Q-horečka.

Rod BARTONELLA způsobuje dvě formy onemocnění - tzv. peruánské bradavice a mnohem závažnější horečku Oroya.

### **Vlastnosti a přenos**

Po opuštění buňky většina rickettsií rychle hyne. Ve stolici vši však může *R. prowazekii* přežít dlouho. Odolné jsou coxielly, proto mohou být přeneseny vzduchem. Jinak se přenos děje ze savčích rezervoárů (podle druhu: ovce, hlodavci, psi...) přes členovce (veš, blecha, klišť, komár).

### **Diagnostika**

se provádí jen ve vyčleněných laboratořích za zvlášť přísných bezpečnostních opatření

MIKROSKOPIE se zpravidla neprovádí.

KULTIVACE na žloutkovém vaku nebo buň. kulturách

ANTIGENNÍ ANALÝZA je možná imunofluorescencí.

SEROLOGIE se provádí KFR, aglutinací a imunofluorescencí. U některých rickettsií funguje zkřížená aglutinace - protilátky reagují s O antigeny některých nepohyblivých kmenů Protea (tzv. Weil-Felixova reakce).

### **Léčba**

Tetracyklin, chloramfenikol; důležitá je likvidace přenášejících členovců.

# Základy virologie

## Obecná virologie

### Stavba virionu

Virion (virová částice) není buňka. Rozměry je mnohem menší než bakterie - zhruba 20 - 300 nanometrů (tj. 0,02 - 0,3  $\mu\text{m}$ ).

NUKLEOKAPSIDA je přítomna u všech virů. Skládá se z nukleové kyseliny (DNA, RNA) a bílkovinné kapsidy. Kapsidy mohou mít helikoidální (šroubovicovou) symetrii, nebo symetrii kubickou. Viry s kubickou symetrií tvoří tzv. pseudokrystaly - pravidelné útvary, například tvaru pravidelného dvacetistěnu.

LIPOPROTEINOVÝ OBAL mají pouze obalené viry. Je tvořen lipidickou dvojrůstvou, která pochází z hostitelské buňky (je to původně cytoplazmatická, jaderná nebo jiná membrána). V některých případech je obal připojen specifickou bílkovinou k jádru. Obalené viry jsou méně odolné než neobalené.

VIRY S ATYPICKOU STRUKTUROU: například virus žloutenky B

### Životní projevy virů

Viry nejsou schopny samy o sobě se množit ani si tvořit bílkoviny. Vždycky potřebují hostitelskou buňku.

Ne každá buňka je schopna hostit každý virus (je takzvaně vnímavá). Dokonce i v rámci makroorganismu jsou některé buňky vnímavější než jiné. A tak existují např. viry neurotropní, které napadají především nervové buňky (některé HSV, VZV), viry lymfotropní (EBV, CMV), hepatotropní (viry žloutenek) a podobně.

REPLIKACE VIRŮ probíhá buď v jádře, nebo cytoplasmě hostitelské buňky. Před replikací se virus musí zbavit svých bílkovinných obalů. Vlastní průběh replikace závisí na konkrétním typu daného viru (RNA/DNA, počet vláken).

TVORBA VIROVÝCH BÍLKOVIN je nutná k tomu, aby se virus po replikaci mohl z buňky uvolnit a šířit se dál. Vlastní tvorba bílkovin opět probíhá různě podle toho, o který typ viru se jedná; v každém případě virus částečně využívá proteosyntetický aparát hostitelské buňky.

LATENTNÍ INFEKCE vzniká tam, kde hostitelská buňka sice umožní vniknutí viru do buňky, ale neumožní jeho množení a uvolnění z buňky. Zato umožní jeho přežívání v buňce nebo dokonce včlenění do chromozomu. V některých případech může dojít později k aktivaci této latentní (skryté) infekce, takže infekce vlastně znovu vypukne. Typické je to u některých herpesvirů.

VIRY A NÁDORY. Některé viry mají zřejmě vliv na vznik některých nádorů, zejména EB virus a HHV8.

### Rozdělení virů

Podle nukleové kyseliny rozdělujeme viry na DNA viry a RNA viry; zvláštním případem jsou priony, které nukleovou kyselinu vůbec nemají a vlastně to nejsou viry v pravém slova smyslu.

Viry mohou dále být jednovláknové a dvouvláknové (podle počtu vláken DNA/RNA). U jednovláknových se ještě rozlišuje, zda se jedná o "plus" vlákno nebo "mínus" vlákno.

Podle přítomnosti virového obalu se jak DNA, tak i RNA viry dělí na obalené a neobalené.

Viry vždycky napadají nějakou buňku, bez parazitování na cizí buňce se nemohou reprodukovat. Mohou ovšem napadat člověka (antropopatogenní viry), zvířata (zoopatogenní viry), rostliny (fytopatogenní viry) nebo dokonce bakterie (bakteriofágy). Bakteriofágy se využívají

v bakteriologii k tzv. fagotypizaci - určité kmeny bakterií mohou být napadeny určitým typem fága, ale nikoli jiným typem, a podobně.

## **Význam virů pro člověka**

Je velice různorodý, probírá se u jednotlivých virů (viz tam). Obecně ale platí - u virů probíhají záněty trochu jinak než u bakterií, zejména je menší účast granulocytů, větší účast lymfocytů, větší význam buněčné imunity, což souvisí s tím, že viry jsou povinně nitrobuněční parazité. U virů také se při infekci tvoří jiné složky nespecifické humorální imunity (zejména interferony).

## **Vlastnosti a přenos**

Některé viry jsou hodně citlivé (např. HIV), jiné jsou zato mnohem odolnější než bakterie (třeba rhinoviry). Mnohé desinfekční prostředky, které působí na bakterie, nepůsobí na viry nebo jsou nutné vyšší koncentrace. Týká se to zejména neobalených virů. Účinné bývají jedové preparáty a peroxidy.

Velmi odolné jsou zřejmě priony - je o tom ale málo informací; zdá se, že snášejí i vysoké teploty.

Cesty přenosu rozmanité, stejné, jako u bakterií: máme viry přenosné kapénkovou infekcí, fekálně-orální cestou, sexuálním přenosem, přenašečem (klíště, komár) či krví (injekce). U většiny virů je také možný přenos z matky na plod.

## **Faktory patogenity**

Na rozdíl od bakterií se u virů často nerozlišují jednotlivé patogenní struktury, spíše se virus jako celek považuje za patogenní částici. Tomu odpovídá i boj s infekcí, kdy protilátky často celou virovou aktivitu neutralizují. S tím také souvisí větší význam neutralizačních metod v diagnostice.

## **Diagnostika**

*Možnosti použití jednotlivých postupů velmi závisí na druhu viru, často jsou velmi omezené.*

### **I. Přímá.**

#### **A. Mikroskopie**

a) Elektronová (hrubé zařazení viru podle jeho tvaru)  
b) optická celých virů – pouze poxviry (velké - 300 nm)  
c) optická buněčných inkluzí (např. vztekliny; jedná se o tělíska v buňkách makroorganismu, vzniká buď nahromaděním virionů, nebo nahromaděním produktů defektního metabolismu)

d) optická – sledování CPE – viz kultivace

#### **B. Kultivace (u virů se spíše hovoří o izolaci)**

a) Pokusná zvířata (myši, myšata, bavlínková krysa)  
b) Oplodněné slepičí vejce:  
ba) Amniový vak (obklopuje zárodek)  
bb) Žloutkový vak (zásoba živin pro zárodek)  
bc) Allantois (odpadní vak)  
bd) Chorioalantoidní membrána  
c) Tkáňové kultury (TK) - obvykle jsou to buněčné kultury z nádorů nebo z embryonálních buněk, protože ty mají "zakázané" stárnutí a mohou se tedy množit skoro neomezeně  
ca) zvířecího původu  
cb) lidského původu (například HeLa buňky)

Na rozdíl od bakterií zde při kultivaci mnohdy není viditelný výsledek. Výjimkou jsou bělavé útvary – poky – při izolaci některých virů na chorioalantoidní membráně, a pak ještě optickým

mikroskopem pozorovatelný cytopatický efekt u izolace na TK, Obvykle je však nutné pokračování další metodou – například průkazem angigenu.

**C. Průkaz antigenu (zpravidla ELISA, přímá KFR apod.)** je Jedná se o tytéž metody jako u nepřímé diagnostiky (například u žloutenky B se dá provést ELISA k důkazu HBsAg i k důkazu anti-HBs).

**D. Průkaz nukleové kyseliny (zpravidla PCR)**

**II. Nepřímá:**

**Aglutinace a precipitace** se u virů používají málo.

**KFR** - ve virologii velmi důležitá

**Neutralizace** - různé případy, neutralizace cytopatických efektů či virových efektů na pokusných zvířatech. Zvláštním případem neutralizace je HIT - hemaglutinačně inhibiční test. Viry normálně v laboratorních podmínkách aglutinují červené krvinky. Specifické protilátky ovšem tomuto dokáží zabránit.

**ELISA** včetně Western blottů (např. hepatitidy). V poslední době má u mnohých virů velký význam.

## **Léčba a prevence**

Očkování: Do základního očkování patří: spalničky + zarděnky + příušnice, dětská obrna (živé očkovací látky); žloutenka B. Dále je možno očkovat proti chřipce, klíšťové encefalitidě a všelijakým tropickým chorobám.

Antivirotika: jsou k dispozici pouze z některých virů (chřipka - amantadin, HIV - azidothymidin, herpesviry - acyklovir = HERPESIN). Možnosti jsou omezené a oproti bakteriím chybí možnost zjišťovat citlivost na antivirotika v laboratoři.

Dále se využívají další postupy - podávání interferoni, imunologická léčba, a samozřejmě léčba příznaků.

## **DNA VIRY**

### **Poxviridae**

Poxviry jsou největšími klinicky významnými viry (kolem 300 nm). Jejich tvar připomíná briketu. Teoreticky jsou viditelné i v optickém mikroskopu, ale v praxi se této skutečnosti nevyužívá. Obsahují dvojitou DNA, jsou obalené.

### **Význam a rozdělení**

Čeď poxviridae obsahuje řadu zvířecích virů. Z virů přenosných na člověka byl nevýznamnější virus varioly (pravých neštovic). Kromě toho sem patří virus vakcinie (tím se proti pravým neštovicím očkovalo) a virus molluscum contagiosum.

**PRAVÉ NEŠTOVICE** se projevovaly horečkou, po které následoval výsev neštovic - puchýřů, později hnisavých a v některých případech prokrvácených (tyto případy měly horší prognózu). Nemoc byla značně závažná. **VAKCINIE** je virus-kříženec, příbuzný viru kravských neštovic. Je antigeně příbuzný viru pravých neštovic, proto se ho používalo k očkování. Nyní už se proti pravým neštovicím nikde neočkuje, protože byly celosvětově eradikovány (vymýceny). **MOLLUSCUM CONTAGIOSUM** je kontaktní nákaza, při které vznikají drobné nádorky.

### **Vlastnosti a přenos**

Pravé neštovice se přenášely vzduchem. Molluscum contagiosum se přenáší kontaktem.

### **Diagnostika**

U neštovic byla typické buněčné inkluze - Guarnieriho tělíška. Virus se také dal izolovat na chorioalantois (pozorovaly se poky - jiné u pravých neštovic, jiné u a používaly se serologické reakce. U molluscum contagiosum se také prokazují velké inkluze v cytoplasmě.

### **Poznámky**

Eradikace (vykořenění) neštovic bylo možné díky dvěma faktorům: 1) virus není přenosný na zvířata, 2) virus netvoří dlouhodobé (chronické, persistentní, latentní...) formy. I tak si vyžádala eradikace nezměrné úsilí. Nyní se již neštovice vyskytují na celé zeměkouli jen v několika výzkumných laboratořích. Jejich úložiště jsou bedlivě hlídána kvůli možnému zneužití bioteroristy. Je ovšem otázka, zda jsou opatření dodatečně spolehlivá, zejména v případě ruské.

Zajímavostí je, že neštovice byly první onemocnění, proti kterému se očkovalo. Očkování ovšem bylo velmi primitivní a skutečný mechanismus, jak funguje, samozřejmě nebyl znám.

## **Herpesviridae**

Herpesviry jsou obalené dvouvláknové DNA viry. Jejich kapsida má kubickou symetrii.

### **Význam a rozdělení**

Ze všech herpesvirů je u člověka významných nejméně osm (další jsou postupně objeveny). Lidské i zvířecí herpesviry se rozdělují na tři podčeledi:

ALPHAHERPESVIRINAE: rod *Simplexvirus* - virus herpes simplex (= prostého oparu) typů 1 a 2 a *Varicellovirus* - virus varicella-zoster (původce dětských neštovic a pásového oparu)

BETAHERPESVIRINAE: rod *Cytomegalovirus* a rod *Roseolovirus* (do kterého patří 6. a 7. lidský herpesvirus)

GAMMAHERPESVIRINAE: rod *Lymphocryptovirus* (= EB virus, původce infekční mononukleózy) a rod, do kterého patří osmý lidský herpesvirus.

HERPES SIMPLEX je bolestivý slizniční opar. Opar rtů bývá způsoben nejčastěji virem HSV1, opar pohlavních orgánů virem HSV2, ale může tomu být i naopak.

HERPES ZOSTER neboli pásový opar je způsoben virem VZV. Opar se zde vytváří v oblastech, odpovídajících inervaci určitým nervem (na trupu jsou to opravdu pásy). Bolestivost je ještě větší než u prostého oparu. Projevuje se zčervenáním s puchýřky. Pásový opar je způsoben obnovením aktivity nákazy, která proběhla dříve - buď jako plané neštovice, nebo bez příznaků. Infekce přetrvává v dostředné nervové uzlině.

PLANÉ NEŠTOVICE je dnes prakticky nejběžnější klasickou dětskou nemocí, protože proti většině ostatních se již očkuje. Také proti planým neštovicím již existuje očkovací látka. Vaše děti už možná budou očkovány společně se zarděnkami, příušnicemi a spalničkami. Vývoj neštovic: horečka - růžové skvrny - puchýřky - zakalení - zasychání do krust. Neštovice se vysévají ve vlnách. Neštovice svědí. Komplikací může být bakteriální superinfekce (např. stafylokoková).

INFEKČNÍ MONONUKLEÓZU způsobuje VIRUS EBSTEINA A BARROVÉ (EBV). Je to onemocnění, projevující se zvětšenými mízními uzlinami, příznaky angíny, ale mnohdy i různými jinými příznaky. Často i po skončení akutní fáze onemocnění přetrvávají některé příznaky. Závažné je, že EBV má vztah k některým nádorům, zejména tzv. Burkittově lymfomu, ale zřejmě i jiným (karcinom nosohltanu, Hodgkinova nemoc).

CYTOMEGALOVIRÓZA se projevuje podobně jako infekční mononukleóza. Bývá spíše mírnější. Stejně jako infekční mononukleóza může proběhnout i jako mírná žloutenka. Obě onemocnění se vyskytují nejčastěji u mládeže a mladých dospělých (první polibky, popřípadě nejen polibky!), i když cytomegaloviróza je častá i u menších dětí. Nebezpečná je cytomegalie u těhotných.

ROSEOLA INFANTUM neboli EXANTHEMA SUBITUM neboli ŠESTÁ DĚTSKÁ NEMOC je způsobena virem HHV 6 (Human HerpesVirus 6), ale určitý vztah k ní má také HHV7. Je to poměrně lehké onemocnění, projevuje se jako vyrážka s horečkou u malých dětí.

PATOGENNÍ PŮSOBNÍ HHV 8 není zcela jasné. Ukazuje se však pravděpodobná souvislost s Kaposiho sarkomem, což je rakovinné bujení, které vzniká často u osob nemocných AIDS. Přesné spolupůsobení HIV a HHV8 není vyjasněno.

### **Faktory patogenity**

Herpesviry jsou neurotropní nebo lymfotropní, tj. mají vztah k nervové nebo lymfatické tkáni. Neurotropní herpesviry mají zároveň vztah i ke kůži (to souvisí s tím, že embryonálně vzniká kůže ze sterjného základu jako nervová tkáň - viz histologie a embryologie). V příslušných buňkách se množí a mohou v nich někdy i dlouhodobě přežívat.

U virů pásového oparu je typické, že přežívají dlouhou dobu (i několik desetiletí) v nervových buňkách. Pak se najednou projeví prostý či pásový opar, i když už k nové nákaze nedojde. Spouštěcí mechanismy mohou být různé, např. stres; některé spouštěcí mechanismy neznáme. Dlouhodobé přežívání se vyskytuje i v případě prostého oparu.

### **Vlastnosti a přenos**

Herpesviry jsou dosti citlivé vůči vlivům prostředí. Přenášeny jsou zpravidla bezprostředním kontaktem (dotyk, líbání, pohlavní styk). Krátký přenos vzduchem však není vyloučen.

### **Diagnostika**

IZOLACE VIRU se provádí nejčastěji na buněčných kulturách. U některých herpesvirů lze pozorovat CPE. Při kultivaci na chorioalantoidní membráně vidíme poky.

PRŮKAZ ANTIGENU se v některých případech provádí přímou imunofluorescencí.

PRŮKAZ DNA se provádí zpravidla PCR.

SEROLOGICKÁ DIAGNOSTIKA se provádí pomocí KFR, nepřímou imunofluorescencí nebo reakcí ELISA. U infekční mononukleózy se vedle toho prokazují tzv. heterofilní protilátky. Ty reagují s nespecifickým antigenem - erytrocyty nějakého zvířete. Modifikací této tzv. Paul-Bunellovy reakce je celá řada, v současnosti se používají zejména OCH a AKE. Protože však Paul-Bunellova reakce není zcela spolehlivá, je ve sporných případech vhodnější použít reakcí se skutečnými antigeny EB-viru (např. anti-EBNA, kde EBNA je nukleární antigen EB viru).

### **Léčba**

U obou HSV se používá acyklovir (firemní názvy Zovirax nebo Herpesin) celkově či lokálně. U VZV je méně účinný, používá se tu jeho derivát Famcyklovir. U dalších herpesvirů jsou neúčinné. Zkoušejí se jiné léky včetně hyperimunních globulinů.

Infekční mononukleóza někdy připomíná angínu. Pokud se k léčbě použije ampicinin, dochází k těžkým komplikacím!

\*\*\*\*\*

Líbej mě, líbej mě, líbej mě víc,

oparům vesele vyjděme vstříc.

Možná by pomohlo, kdybych se svlík',

virům by pomohl pohlavní styk.

Já ti dám své viry, ty své dáš zas

viry nás nakazí rychle a včas.

\*\*\*\*\*

### **Papovaviridae**

Jsou to malé (45 - 55 nm) neobalené DNA viry. Kapsida kubické symetrie obsahuje dvouvláknovou DNA.

### **Vlastnosti a přenos**

Jsou značně rezistentní k vlivům prostředí, přesto se papilomaviry) přenášejí spíše kontaktem než vzduchem. Naopak pro polyomaviry je přenos vzduchem typický.

### **Význam a rozdělení**

Dělí se do dvou rodů: Papillomavirus a polyomavirus.

PAPILLOMAVIRUS způsobuje různé typy bradavic a v okolí pohlavních orgánů květákovité útvary - tzv. condylomata acuminata. (*Neplést s plochými útvary u syfilis - condylomata lata*). Některé bradavice jsou podezřelé z toho, že jsou tzv. prekancerózami (tj. že se z nich mohou vyvinout zhoubné nádory).

POLYOMAVIRY významné pro člověka jsou dva: JC virus a BK virus. Zatímco BKV způsobuje zpravidla nezávažné, zpravidla močové infekce, JCV může způsobit závažné postižení CNS.

### **Diagnostika**

BKV a JCV lze izolovat na TK, papilomaviry nikoli. Základem diagnostiky je PCR. U polyomavirů lze provést serologický průkaz HIT (hemaglutinačně-inhibičním testem).

### **Léčba**

Posilování imunity. Specifická léčba zatím není známa.

## **Adenoviridae**

Jsou to neobalené viry s kubickou symetrií kapsidy - ta má tvar dvacetistěnu a je složena z 252 kapsomer. Rohové kapsomery mají výběžky s kulovitým zakončením. Kapsida obsahuje dvojvláknovou DNA.

### **Vlastnosti a přenos**

Vzdorují pH od 5 do 9, jsou odolné i vůči teplotě. Přenášejí se kapénkovou infekcí, ale i jinak (alimentárně, kontaktem, sexuálně).

### **Význam a rozdělení**

Rozeznáváme 41 sérotypů. Obtížně kultivovatelné typy 40 a 41 vyvolávají střevní onemocnění dětí. Ostatní způsobují různé formy zánětů spojivek, dýchacích infekcí (i epidemických), horeček a zánětů močového měchýře.

### **Diagnostika**

Kromě typů 40 a 41 je možná kultivace na TK. U typů 40 a 41 se provádí elektronmikroskopické vyšetření nebo spíše latexová aglutinace. Serologie zahrnuje neutralizaci, KFR, HIT nebo nepřímou imunofluorescenci.

### **Léčba**

Specifická neexistuje, zkouší se, v některých zemích také zkoušejí očkovat.

## **Parvoviridae**

Jsou to jediné DNA viry, jejichž DNA má jen jedno vlákno. Jsou velmi mrňavé (20 - 26 nm), neobalené. Nemohou se samy reprodukovat, potřebují buďto faktory, které vznikají při buněčné mitóze, nebo spoléhají na pomocný virus.

### **Vlastnosti a přenos**

Velmi rezistentní. Přenos kapénkový.





## Význam a rozdělení

ROD PARAMYXOVIRUS zahrnuje virus parachřipky, virus příušnic a virus Newcastelské choroby drůbeže (výjimečně přenosné na člověka).

ROD MORBILLIVIRUS zahrnuje virus spalniček.

ROD PNEUMOVIRUS zahrnuje respirační synciciální virus.

PARACHŘIPKA se na rozdíl od chřipky nevyskytuje jen u lidí, ale i u zvířat. Projevuje se podobně jako chřipka, ale dýchací příznaky (včetně otoku hrtanu) jsou častější než u chřipky.

PŘÍUŠNICE se projevují zpravidla zduřením slinných žláz. Prvotní pomnožení probíhá na sliznici nosohltanu, po období viremie se virus dostává na místo. Může se ale dostat také do žláz s vnitřní sekrecí a na mozkové pleny. U dospělých mužů je obávaný zánět varlat (může vést k neplodnosti). Může též dojít k zánětu slinivky břišní (má podobnou strukturu jako slinné žlázy).

SPALNIČKY se projevují nejprve rýmou, zánětem spojivek a kašlem. Pak se v ústech objeví tzv. Koplikovy skvrny a nakonec se objeví vyrážka. Děti bývají plačtivé, typická je "spalničková tvář". Spalničky dítě dosti trápí. Vzácnou komplikací, zejména u dětí, které onemocněly před druhým rokem života, je tzv. subakutní sklerozující panencefalitida (SSPE). Začíná 6 - 7 let po akutní infekci a během několika měsíců končí smrtí.

RS VIRY patří k nejdůležitějším původcům infekcí DCD u dětí. Projevují se ale i rýmou a zánětem nosohltanu.

## Diagnostika

U příušnic a spalniček je důležitá klinická diagnóza dítěte (typické příznaky). Izolace virů se provádí na TK lidských či opičích buněk (parachřipka, spalničky, RSV) či na kuřecím zárodku (příušnice). Častěji se užívá KFR, HIT a nověji ELISA.

## Léčba a prevence

V ČR i řadě jiných zemí se v současnosti očkuje trojvaccínou (Trivivac) proti příušnicím, spalničkám a také (viz Togaviry) zarděnkám. Očkovací látka je živá a zpravidla dobře účinná.

Léčba bývá symptomatická. U RS virů lze použít ribavirin.

## Picornaviridae

Picornaviry jsou malé (22 - 30 nm) neobalené RNA-viry s kubickou symetrií kapsidy.

## Vlastnosti a přenos

Jsou značně odolné vůči vnějším podmínkám včetně desinfekce. Spolehlivě je ničí chlorové a peroxidové přípravky. Enteroviry se přenášejí zpravidla fekálně-orálně (tj. virus vstupuje ústy), rhinoviry kapénkovou infekcí.

## Význam a rozdělení

Picornaviry významné pro člověka se dají rozdělit na:

- Rod ENTEROVIRUS, kam patří
  - polioviry - tj. viry dětské obrny (tři typy)
  - echoviry, coxsackieviry A a B a enteroviry 68, 69, 70 a 71
- Rod RHINOVIRUS - způsobuje především dýchací infekce (rýmu)
- Rod HEPATOVIRUS - virus žloutenky A (probereme u žloutenek)

Dětská obrna je onemocnění, které může probíhat bezpříznakově, jako chřipka, jako aseptická (nehnisavá) meningoencefalitida anebo jako paralytická (= obrnová) poliomyelitida (zánět mozku a míchy). Část obrn později ustoupí (tam, kde nervové buňky byly jen utlačeny otokem), část je trvalá (tam, kde jsou buňky virem zničeny). Ostatní enteroviry způsobují různá

onemocnění od dýchacích a chřipkových ("letní chřipky" - typický výskyt v létě a začátkem podzimu) přes záněty svalů a pojiva až po encefalitidy.

### **Diagnostika**

Používá se KFR a neutralizace. Z přímých metod pak kultivace na TK (ne u všech jmenovaných virů se daří), rhinoviry se kultivují na buňkách průdušnice.

### **Prevence a léčba**

Specifická léčba neexistuje. U rýmy se zkoušel interferon (to je vlastně produkt buněk napadených virem), ale bezúspěšně.

U poliovirů se používá očkování. První očkovací látka byla injekční a šlo o mrtvý virus (Salkova vakcína). Také u nás se používala v letech 1958 - 1960. Od té doby se používá živá Sabinova vakcína, která se podává ústy (na lžičce).

*Enterovirus 70 vyvolal v roce 1969 těžkou epidemii hemoragické konjunktivitidy (krva- vého zánětu spojivek), zejména v západní Africe. Místní do- morodci si mysleli, že je to trest bohů za to, že si člověk dovolil vstoupit na měsíc - v té době totiž probíhala mise Apolla 11. Proto se nemoci začalo říkat Apollo disease. (Foto z Microsoft Encarta Encyclopedia)*

## **Reoviridae, calliciviridae a astroviridae**

Jsou to jsou kulaté neobalené viry s kubickou symetrií kapsidy. Velikost: Reoviridae 70 - 80 nm, ostatní do 40 nm. Kapsida kalicivirů připomíná kalich, u astrovirů hvězdu. Reoviry mají kapsidu dvojitou.

### **Význam a rozdělení**

Reoviridae zahrnují rod Ortoreovirus (příležitostné dýchací a trávicí infekce, hlavně dětí), Orbivirus (horečky s krvácením, popř. i záněty mozku) a nejdůležitější rod Rotavirus (nejčastější příčina dětských virových průjmů, často epidemie ve školkách).

Vedle klasických kalicivirů a astrovirů (zejména tzv. viru Norwalk) se v poslední době hodně mluví o tzv. SRSV virech (Small Round Structured Viruses - Malé kulaté strukturované viry). Kaliciviry, astroviry i SRSV způsobují převážně průjmy. Mezi kaliciviry patří také virus žloutenky E (viz žloutenky).

### **Vlastnosti a přenos**

Značně odolné. Přenos fekálně-orální, u orbivirů členovci.

### **Diagnostika**

KFR, neutralizace, HIT, u kal. + ast. ELISA, RIA; z přímého průkazu elektronová mikroskopie; u rotavirů latexová aglutinace.

### **Léčba a prevence**

Léčba průjmů: zavodnění. Prevence: osobní hygiena. Specifická léčba neexistuje

## **Coronaviridae**

Obalené RNA viry, 60 - 220 nm, u lidí jsou známy tři - viry 229 E a OC 43 způsobují dýchací infekce, třetí, virus HECV způsobuje infekce střevní. Kapénkový přenos. Diagnostika obtížná, používá se přímá ELISA, PCR a serologie pomocí KFR.

## **Bunyaviridae**

Obalené RNA viry, 90 - 100 nm.

### **Vlastnosti a přenos**

Bunyaviry jsou málo odolné. Hantaviry se přenášejí vdechnutím prachu nebo pozřením potravy kontaminované hlodavci. Ostatní tři druhy patří do skupiny arbovirů - viz poznámka. Bunyaviry přenášejí komáři, nairoviry klíšťata a fleboviry komárci čili flebotomové.

### **Význam a rozdělení**

HANTAVIRUS je původce zoonózy, jejímž rezervoárem jsou drobní hlodavci (myšovití). Způsobuje různě těžká onemocnění ledvin, popřípadě i s horečkou a krvácením. Méně časté jsou plicní formy. Han. byly objeveny v Koreji, ale vyskytují se i u nás.

Arboviry BUNYAVIRUS, NAIROVIRUS a PHLEBOVIRUS způsobují různá onemocnění s horečkou, bolestmi kloubů, ale u některých také mozkové záněty apod.

### **Diagnostika a léčba**

Serologická. - U hantavirů byl z úspěchem použit ribavirin.

### **Poznámka: Arboviry**

Pojem ARBOVIRY neoznačuje systematickou jednotku, ale skupinu navzájem nepříbuzných virů, které mají společný přenos členovci (ARthropod BORne = členovci přenášený). Patří sem kromě tří výše uvedených rodů také Orbivirus (Reoviridae), Alfavirus (Togaviridae), Flavivirus (Flaviviridae).

## **Togaviridae**

Obalené RNA viry s kubickou symetrií, 60 - 70 nm.

### **Význam a rozdělení**

ALFAVIRY vyvolávají tři typy encefalitidy koní, všechny příležitostně přenosné i na člověka.

RUBIVIRUS vyvolává zarděnky. Mají delší inkubační dobu než spalničky (19 - 21 dnů) a probíhají lehčeji. Objevuje se zduření uzlin, zejména za uchem. Vyrážka začíná na obličeji. Často se objeví i dýchací příznaky. Nebezpečná je nákaza v prvních měsících těhotenství. Dochází k potratu nebo k defektům srdce, očí, vnitřních orgánů apod., anebo vznikají chronické vrozené zarděnky. Ojedinele vzniká po zarděnkách SSPE jako po spalničkách.

### **Vlastnosti a přenos**

Togaviridae jakožto obalené viry jsou méně odolné než viry neobalené. Alfaviry jsou typické arboviry, virus zarděnek se přenáší zpravidla vzduchem (kapénková infekce).

### **Diagnostika**

Pokus o izolaci viru se provádí na TK. Používá se výplach z nosohltanu, krev, ale také moč a jiné vzorky. Běžně se používají spíše nepřímé metody, zejména KFR, HIT a ELISA.

### **Prevence**

Živá vakcína - součást trivakcíny Trivivac. Nesmí být podávána těhotným. Specifická léčba se nepoužívá.

## **Flaviviridae**

Jsou to obalené RNA viry, 40 - 50 nm. Kapsida je kubická.



TOHLE TAM Z DŮVODŮ AUTORSKÝCH PRÁV OVŠEM

NEMŮŽE ZŮSTAT.

V přenosu některých filovirů a jiných arbovirů, ale také bakterií a prvoků jsou významní komáři. Často ovšem velmi záleží na druhu komára. Náš komár *Culex pipiens* zpravidla infekce nepřenáší, na rozdíl od rodů *Aedes* či *Anopheles*. (Samička komára, druh neved., Microsoft Encarta)

### Význam, rozdělení a přenos

Významný je rod *Flavivirus* a skupina virů hepatitidy C; hepatitidy budou probrány zvlášť, zbývá tedy rod **FLAVIVIRUS**.

Ten se dělí na několik podskupin - vše jsou arboviry:

Skupina	Přenašeč	Projevy
Viry japonské encefalitidy	Komár	Inaparentní infekce až těžká encefalitis
Viry dengué	Komár <i>Aedes</i>	Obvykle "chřipkové"
Viry žluté zimnice	Komár (zejm. <i>Aedes</i> )	Horečka, žloutenka, proteinurie, krvácivost
Viry skupiny klíšťové encefalitidy	Klíšťata	2 - 3 fáze, 1. chřipková, pak může být encefalitis

### Diagnostika

Serologie (KFR, HIT), izolace na TK, myších.

### Prevence

Hubení přenašečů, u klíšťové enc. vhodný oděv, správné a včasné odstraňování klíšťat, očkování (placené, 3 dávky).

### Arenaviridae

Obalené RNA viry, 50 - 300 nm. Dřeň virionů obsahuje hostitelské ribozomy, které se v elektronové mikroskopii jeví jako "zrnka písku" (odtud název - arena = latinsky písek).

### Vlastnosti a přenos

Nejde o arboviry. Zdrojem je voda, potraviny či prach, kontaminované exkřety zvířat (u LCMV myší). LCMV je rozšířený i v Evropě, ostatní viry pouze v Africe nebo Jižní Americe.

## **Význam a rozdělení**

U člověka je významný virus lymfatické choriomeningitidy (LCMV), virus Lassa a jihoamer. viry Junin, Machupo a Guanarito. LCMV bývá bezpříznaková či podobná chřipce nebo rýmě, výjimečná je meningoencefalitida. Ostatní viry: hemorhag. horečky.

## **Diagnostika**

Serologie. Kultivace na TK je u Lassy velmi nebezpečná!

## **Léčba**

Ribavirin, pokusy s očkováním.

## **Rhabdoviridae**

Obalené RNA viry tvaru střely, vel. 130 až 240 x 70 - 80 nm.

## **Vlastnosti a přenos**

Vzteklina se naštěstí přenáší pouze krvavým poraněním, zpravidla pokousáním, řidčeji škrábnutím. Typickými zvířaty jsou liška, pes, méně často kočkovité a kunovité šelmy aj.; pozornost je často věnovaná netopýřům, u nichž se vyskytuje serotyp 4.

## **Význam a rozdělení**

U člověka je významný lyssavirus - virus vztekliny a několik jeho blízkých příbuzných. Vzteklna je smrtelná nemoc s postižením CNS. Typické je, že nemocní jsou dehydratováni, ale mají panickou hrůzu z napití. Člověk umírá v křečích a bolestech, obvykle na zástavu srdce nebo dýchání.

## **Diagnostika**

1. Průkaz Negriho tělísek (= virového nukleoproteinu) imunofluorescencí v buňkách hippocampu (Cornu ammonis).
2. Izolace viru z tkáně CNS nebo ze slin na novorozených myškách
3. Průkaz virových antigenů např. v otiscích rohovky imunofluor.
4. Průkaz protilátek, zejména v likvoru: KFR, neutralizace

## **Prevence a terapie**

Očkování psů, likvidace toulavých zvířat, požerová vakcína u lišek. Ránu kousnutím je třeba vymýt, desinfikovat, doporučuje se infiltrovat okolí rány protivzteklinovým sérem (= pasivní imunizace) a zahájí se očkování, u dětí za hospitalizace, pokud se neprokáže, že zvíře bylo zdravé.

## **Filoviridae**

Viry podobné rhabdovirům, ale delší - až přes mikrometr.

## **Vlastnosti a přenos**

Zoonózy?, zdroj nejasný (opice), přenos mezi lidmi možný.

## **Význam a rozdělení**

Vyvolávají hemorhagické horečky: Marburg, Ebola.

## **Diagnostika, prevence, terapie**

Izol. na TK, nepřímá IF, ELISA. Prevence a léčba neúspěšná

## Retroviridae

Jsou to RNA viry, 100 - 120 nm. Struktura je neobvyklá: 1. lipidový obal, 2. zevní kapsida, 3. tzv. nukleoid - RNA + proteiny.

### Vlastnosti a přenos nejdůležitějšího zástupce čeledi

Virus HIV je velmi málo odolný. Může být přenesen pouze krví a pohlavně. Riziko přenosu klesá v pořadí anální styk - vaginální styk - orální styk, což ale neznamená, že by i ten posledně jmenovaný nebyl rizikový, a to zejména pro příjemce spermatu či vaginálních sekretů. U análního styku riziko zvyšuje množství drobných poranění na sliznici konečníku (konečník je méně pružný).

### Význam a rozdělení

- Spumavirinae - u člověka význam nejasný
- Onkovirinae: viry HTLV-1 a HTLV-2, vyvolávají některé typy leukémií (hairy cell).
- Lentivirinae - viry HIV-1 a HIV-2 a analogické zvířecí viry (SIV - opičí, FIV - kočičí). Virus HIV-2 se vyskytuje hlavně v západní Africe. Oba HIV viry vyvolávají AIDS.

**AIDS** (Acquired ImmunoDeficiency Syndrome) je vrcholným stádiem infekce HIV. Infekce však začíná nespecifickými "chřipkovými" příznaky. Pak začne období latence, trvající měsíce až mnoho let. Po této době se objeví **PGL** - perzistentní generalizovaná lymfadenopatie (zvětšené uzliny, únava, pocení, zvýšené teploty), **ARC** (AIDS-Related Complex - příznaky podobné AIDS, ale méně vyjádřené) a pak vlastní AIDS. Choroba postihuje jeden druh lymfocytů (tzv. **CD4**) a projevuje se především zvýšeným výskytem infekcí, a to i takových, které se u HIV-negativních téměř nevyskytují (infekce parazitem *Pneumocystis carinii*, atypickými mykobakteriemi apod.); mimo to se objevují také nádory, zejména Kaposiho sarkom (viz HHV 8). Ten vychází z endotelu kapilár a je charakterizován hnědočervenými uzly na kůži (zejména bérců) a sliznicích.

### Diagnostika

Provádí se serologie - ELISA; prokazují se specifické protilátky proti určitým antigenům. U pozitivních se provádí (v národní referenční laboratoři) ověření tzv. Western blotem (imunoelektroforéza). V poslední době se prosazuje přímý průkaz pomocí PCR.

### Léčba a prevence

I když AIDS nelze vyléčit, lze ho léčit. Vedle symptomatické léčby a terapie oportunních infekcí se dnes používá řada antivirotik: azidothymidin (AZT), didanosin (= ddl, dideoxuridin), zalcitabin. Na vývoji léčby AIDS se podílí i český vědec dr. Holý. Jeho preparát Cidofovir účinkuje především při oportunním zánětu oční sítnice, způsobeném CMV, ale novější Adefovir a zejména PMPA jsou velmi nadějně i v boji se samotným virem HIV. Mimo to se pracuje i na vakcínách, ovšem výsledky jsou sporné. Proto stále platí důraz na prevenci: dodržování bezpečnosti práce ve zdravotnictví, prevence užívání nitrožilních drog, tzv. "bezpečnější sex" apod. Při vší osvětě je nutno brát v úvahu, že i HIV pozitivní člověk zůstává člověkem a neměl by stát mimo společnost.

### Priony

O těchto infekčních agens se předpokládá, že vůbec neobsahují nukleovou kyselinu. Jsou to vlastně jen pozměněné varianty bílkoviny, které jsou jinak normálně produkovány v mozku. Prion je tedy spíš "chyba" než "mikrob". Setká-li se pozměněná bílkovina s nepozměněnou, pozmění ji také (konfigurace molekuly) a tak se jako "domino" nemoc šíří. Není to ale jisté.

### Vlastnosti a přenos

Dosavadní údaje tvrdí, že priony jsou značně odolné, mžikově vydrží prý i 200 °C. Přenos probíhá zřejmě konzumací nakažené tkáně, ovšem s tím, že není jasné, do jaké míry je možný mezidruhový přenos. Nicméně se za rizikové považuje požívání zejména mozků a vnitřností postižených zvířat.

### Význam a rozdělení

U člověka je dlouho známa nemoc kuru, která se vyskytovala u kanibalů na Nové Guinei. Nověji je také známa tzv. Creutzfeld-Jacobsonova nemoc. Prionové choroby probíhají jako spongiformní encefalopatie - "zhoubovatění" mozku.

Podobné nemoci se vyskytují u ovcí (scrapie), krav (BSE - "nemoc šílených krav"), norků a podobně.

### Diagnostika

Zatím se opírá pouze o klinický a histopatologický obraz.

### Léčba

Specifická léčba neexistuje.

### Původci virových žloutenek

Tyto viry nejsou navzájem příbuzné. Viry se označují jako HXV (X = A, B, C, D, E), žloutenky jako VHX (virová hepatitida X).

### Význam, rozdělení a přenos

Všechny viry žloutenek vyvolávají žloutenku čili hepatitidu (zánět jater). Nemoc začíná po inkubační době (různě dlouhé, u VHA 2 - 7 týdnů, u VHB 2 - 6 měsíců) většinou nespecificky, později začíná žloutenka (nejprve na bělímě oka), bolesti, trávicí obtíže apod. Někdy, zejména u VHD, může být průběh fulminantní (=velmi rychlý). U některých hepatitid se objevuje různá forma chronicity (od přetrvávání bezpříznakové infekce až po trvalé potíže).

Typ	NA	Čeľad	Přenos (převažující)	Chronicita
VHA	RNA	Enteroviridae	Fekálně-orální	Ne
VHB	DNA	Hepadnaviridae	Sexuální, krev	Ano
VHC	RNA	Flaviviridae	Krev, snad sexuální	Ano
GC	původně "hepatitida G", avšak jde jen o variantu VHC			
VHD	RNA	viroid	jako B	Ano
VHE	RNA	Caliciviridae	Fekálně-orální	Asi ne

K přenosu hepatitid A, E: poslední větší epidemie VHA proběhla v 70. letech. Nakaženy byly polské jahody, hnojené lidskými fekáliemi. Nyní se VHA vyskytuje mezi obyvateli s malým hygienickým povědomím. VHA i VHE si také Češi a Moravané přivážejí z ciziny.

K přenosu hepatitidy B (a s ní i D): dříve typická profesionální infekce zdravotníků, nyní díky očkování mnohem méně častá, proto relativně je teď větší podíl sexuálně přenesených žloutenek. Významný je také podíl narkomanů, velké riziko představují jehly pohozené narkomany na ulicích a v parcích, jejichž prostřednictvím se mohou nakazit při hře dětí.

Přenos hepatitidy C je především krev - narkomani apod. Není jasné, jak se přenáší v době, kdy žádní narkomani nebyli. Snad je možný i pohlavní přenos, ale není to jasné.

### Antigenní struktura

U HAV, HCV a HEV se zpravidla nerozlišují jednotlivé antigeny. HBV se 42 nm velké tělíčko (tzv. Daneho tělíčko), které se skládá z obalu (kromě hostitelských lipidů virový antigen, tzv.



"australský antigen" - HBsAg, písmenko "s" znamená "surface" = povrchový), kapsidy a jádra. Kapsida obsahuje další dva důležité antigeny: HBcAg a HBeAg. - HBsAg se vyskytuje v krvi i jako prázdné obaly (v tomto případě měří obal jen 22 nm) anebo jako útočiště vnitřních struktur **HDV** (v tom případě měří 35 nm). HDV je zvláštní "viru-nevirus", který může existovat pouze v prázdných obalech - HBsAg. Proto nákaza HDV vzniká pouze jako současná infekce (koinfekce) nebo následná infekce (superinfekce) po žloutence B. Bez žloutenky B nemůže žloutenka D nastat.

### **Diagnostika**

- **HAV:** Klinika, jaterní testy. Přímá i nepřímá ELISA, RIA.
- **HBV:** Klinika, jaterní testy. Antigeny HBsAg, HBeAg; protilátky anti-HBs, -HBe, -HBc; PCR. Antigen HBcAg se v krvi nevyskytuje. Protilátky se v krvi zásadně objeví až po vymizení antigenu. HBeAg vymizí dřív (v té době pacient přestává být infekční, nastává útlum), HBsAg později (vymizení znamená ukončení infekce). Protilátky anti-HBc jsou velmi cenné v době tzv. "diagnostického okna", kdy ani pomocí HBsAg, ani pomocí JT nelze diagnostiku spolehlivě provést. Kombinací několika vyšetření antigenů a protilátek ("markery hepatitid") se dá odhadnout, v jakém stádiu se onemocnění nachází.
- **HCV a GB viry:** vedle kliniky hlavně nepřímá ELISA.
- **HDV:** diagnóza VHB; nepřímá ELISA apod.
- **HEV:** nepřímá ELISA (u nás se zatím ne všude provádí)

### **Léčba, profylaxe, prevence**

U VHA a VHB se v léčbě a profylaxi používá často kombinace nepřímé a přímé imunizace. Nepřímá využívá buďto jako specifické antisérum, nebo polyvalentní sérum. Nespecifické polyvalentní sérum se používá tam, kde není k dispozici specifické (VHA), ale imunologové v poslední době upozorňují na převahu rizik (alergizace) nad pozitivy. VHB se krom toho léčí interferonem.

V prevenci se používá očkování proti VHA (inaktivovaná) a VHB (používá se často rekombinantní očkovač látka, tj. geneticky připravená vakcína). V současné době se v Česku zvažuje vřazení očkování proti VHB do pravidelného očkovacího kalendáře. V některých zemích již funguje. Očkování proti VHA je doporučováno zejména při výjezdech do zahraničí.

# **Základy mykologie**

## **Obecné vlastnosti hub**

### **Vlastnosti, přenos a rozdělení hub**

Houby jsou eukaryotní organismy, tvoří samostatnou říši vedle říše živočišné a rostlinné. Z organel hub má význam buněčná stěna, tvořená chitinem a úplně jiná než buněčná stěna bakterií. Houby se mohou množit nepohlavně (např. pučením), ale také pohlavně. K tomuto účelu si tvoří spory a konidie. Některé spory ovšem slouží i k nepohlavnímu množení.

Vědecká klasifikace hub se pořád vyvíjí. Situaci komplikuje fakt, že spousta hub má dvě formy - jednu třeba kvasinkovou, druhou pohlavní, která vypadá úplně jinak.

Pro praxi hovoříme většinou o kvasinkách (spíše jednobuněčné, biochemicky hodně aktivní) a vláknitých houbách. Není to ovšem přesné.

Přenos hub může být různý, většinou se ovšem snadno přenášejí vzduchem ve formě spor a konidií.

## Význam a typy chorob

Mikroskopické houby jsou velmi různorodá skupina. Někdy se dělí do šesti tříd podle míry adaptace. Na jednom konci jsou ty, které jsou adaptované tak špatně, že nemají jak škodit (některé půdní houby), na druhém ty, které jsou adaptované tak dokonale, že téměř neškodí a spíše kolonizují sliznice (kandidy). Nejhorší infekce dělají "ty uprostřed".

Houby způsobují mykózy (houbové záněty), mykotoxikózy (houbové otravy, v širším slova smyslu sem patří i otravy velkými houbami, např. muchomůrkami), mykoalergózy (alergie na houby) a mycetismy (houba je přítomna v organismu, ale škodí jen mechanicky utlačováním okolních tkání).

Mykóz přibývá, šíří se následkem "zmenšování světa", změny životního stylu a také antibiotické léčby, která zlikviduje bakterie, které houbám konkurují.

Mykózy dělíme většinou takto:

MYKÓZY POVRCHOVÉ (*Trichophyton*, *Epidemrophyton*), a podkožní (*Sporothrix*)

MYKÓZY ORGÁNOVÉ (*Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*),

KANDIDÓZY mají zvláštní postavení

## Diagnostika

MIKROSKOPIE. Houby jsou asi desetkrát větší než bakterie, proto jsou dobře viditelné i v nativním preparátu. Dají se ale barvit i podle Grama (zejména kvasinky), barví se modře, přestože jejich buněčná stěna nemá nic společného s buněčnou stěnou gram pozitivních bakterií. - Někdy se používají také speciální barvení, např. barvení Parkerovým inkoustem (obarví se pozadí, houby zůstanou neobarvené).

KULTIVACE. Základem je Sabouraudův agar. Většinou se nalévá jako šikmý agar do zkumavek, takže i při dlouhodobé kultivaci (vláknitých hub) půda nevyschne. - U kvasinek se dále používají různé chromagary, např. Candiselect. Jednotlivé druhy kvasinek odlišíme různým zbarvením kolonií.

BIOCHEMICKÁ IDENTIFIKACE. Dříve se používaly auxanogramy (zjišťovalo se, zda houba využívá nějaký cukr) a zymogramy (zjišťovalo se, jestli cukr fermentativně štěpí). Dnes se používá systémů biochemické identifikace v panelu, např. Auxacolor, což je ovšem spíše zymogram než auxanogram, a navíc obsahuje i další biochemické reakce.

OSTATNÍ METODY PŘÍMÉHO PRŮKAZU se používají občas u konkrétních hub.

NEPŘÍMÝ PRŮKAZ má význam u systémových mykóz, např. aspergilózy. Klasické metody (např. mikroprecipitace v agaru) jsou vytlačovány metodami, jako je ELISA.

TESTOVÁNÍ IN VITRO CITLIVOSTI NA ANTIMYKOTIKA připadá v úvahu u kvasinek, nikoli u vláknitých hub. Dá se provést difúzní diskový test jako u bakterií (na Sabouraudově agaru, který je v tomto případě výjimečně nalit do Petriho misky), ale není tak spolehlivý jako u bakterií. Lepší je použít E-test nebo mikrodiluční test. U nás se v poslední době používá Fungitest, což je v podstatě mikrodiluční test připomínající vyšetření MIC u bakterií, ale každé antimykotikum je k dispozici jen ve dvou koncentracích. Je-li v obou důlcích zákal, je kmen rezistentní, není-li zákal nikde, je citlivý, je-li zákal jen v důlku s nižší koncentrací antimykotika, hodnotí se výsledek jako částečná citlivost.

## Léčba

Používají se antimykotika několika skupin:

AMFOTERICIN B je vysoce účinné, ale zároveň také velmi jedovaté rezervní antimykotikum k léčbě velmi závažných infekcí. Menší toxicitu má zvláštní léková forma - amfoter. B v intralipidu.

AZOLOVÁ ANTIMYKOTIKA, jako je intrakonazol (SPORANOX), flukonazol (DIFLUKAN), ketokonazol, mikonazol aj., se používají k běžné léčbě celkové i lokální. U flukonazolu je problémem primární rezistence některých druhů kandid.

5-FLUOROCYTOSIN (flucytozin) je moderní rezervní antibiotikum, velmi drahé, hodí se pro léčbu v kombinacích.

## Původci kožních mykóz

Jsou to houbové organismy, způsobující onemocnění kůže, popřípadě sliznic. Zvláště je probrán rod *Candida* - kandidy mohou vyvolat jak povrchové, tak hluboké mykózy.

### Význam a rozdělení

Tyto houby mohou způsobovat onemocnění různých částí kůže, obvykle označených latinsky jako *tinea* - např. *tinea capitis* (hlavová kůže), *corporis* (nechlupaté části těla), *barbae* (vousů), *pedis* (nohy). Používá se také pojmů *dermatomykóza* (*dermatofytóza*) pro onemocnění kůže, *trichomykóza/fytóza* pro onemocnění chlupů a *onychomykóza* pro onemocnění nehtů.

Nejvýznamnější je tzv. skupina *dermatofyt*, tvořená třemi rody: *Trichophyton*, *Epidermophyton* a *Microsporum*. Mimo to způsobují kožní mykózy další houby, například *Malassezia furfur* způsobuje onemocnění zvané *pityriasis versicolor*, při které vznikají na kůži odbarvené okrsky.

### Přenos

Z hlediska přenosu lze původce kožních mykóz rozdělit na *antropofilní* (čistě lidské, přenos člověk-člověk), *zoofilní* (přenos především zvíře-člověk, vzácně člověk-člověk) a *geofilní* (obvyklý přenos prostředí-člověk). Přenos se děje kontaktem a přes předměty.

### Diagnostika

Rozeznávají se podle MIKROSKOPICKÉHO obrazu (obvykle v nativním preparátu). Zejména zde pomáhají rozmnožovací útvary - makrokonidie a mikrokonidie, jejichž tvar je druhově specifický. Často se před pozorováním vzorek smíchá s kapkou KOH.

Dále se užívá KULTIVACE na Sabouraudově agaru (SA) - pro zvýšení selektivity se přidávají antibiotika. Výsledek kultivace se obvykle vrací k další mikroskopii.

### Léčba

K léčbě kožních mykóz se hodí griseofulvin (Gricin) a terbinafin (Lamisil). Opomíjený, ale dobře účinný je jodid draselný.

## Candida

Kandidy jsou velmi běžnými kvasinkami. U člověka jsou běžné jednak jako původce onemocnění, ale ještě častěji jako bezpříznaková kolonizace (zejména střevo, ale i jinde). Člověk a *Candida* si na sebe v průběhu evoluce velice dobře "zvykli" - onemocnění vzniká při porušení rovnováhy.

### Význam a rozdělení

Nejvýznamnější je druh *Candida albicans*, důležité jsou ale i některé další - *C. tropicalis*, *C. crusei*, *C. parapsilosis*. U závažných onemocnění je druhové určení užitečné - některé druhy mají přirozenou rezistenci vůči některým antimykotikům.

Všechny druhy bývají nalézány ve střevě, v ústech a krku, v močových cestách, na kůži, avšak u oslabených osob také ve tkáních (plíce, trávicí orgány aj.). S výjimkou nálezů ve tkáních nelze jednoznačně říci, kdy je *Candida* spíše patogenem a kdy kolonizací. Pomocí může mikroskopická charakteristika. Eliptické buňky jsou typické pro saprofytickou, neinvazivní formu, řetízky až vlákna pro invazivní.

### Přenos a vlastnosti

Velká většina kandidóz je endogenního původu, tj. že pacient je sám sobě zdrojem onemocnění (například žena si zanesou kvasinky z řiti do pochvy, nebo vůbec nejde o přenos, jen

o porušenou rovnováhu). V poslední době ale přibývá také nemocničních kandidóz, přenášených mezi pacienty navzájem.

Kandidy jsou dosti odolné, zejména proti zásaditému pH. Milují cukry, a proto s oblibou osidlují pochvy diabetiček a mlsných žen, mimo to jsou častější u těhotných v závislosti na hormonálních změnách.

### **Faktory patogenity**

Patogenita kandid je spojena s přilnavostí k hostitelským buňkám (hlavně pomocí mananproteinu), s tvorbou tzv. zárodečných klíčků a popř. vláken (hyf) a s produkcí kyselé proteinázy

### **Diagnostika**

MIKROSKOPICKY v nativním nebo barveném (Gram) preparátu vidíme eliptické buňky, někdy pučící, nebo jejich řetízky až vlákna.

KULTIVACE: Kandidy rostou úspěšně na KA i SA. Mají buďto smetanově bílé, nebo šedavé kolonie. Od kolonií Staph. epidermidis nebo Corynebacterium sp. se odliší někdy kvasnicovou vůní, ale někdy teprve nátěrem.

K odlišení *C. albicans* od ostatních kandid se dříve užívalo tzv. metody zárodečných klíčků - *C. albicans* v séru nebo v půdě s tzv. Tweenem 80 tvoří zárodečné klíčky. Elegantnější je použití půdy Candiselect - *C. albicans* tvoří namodralé kolonie, jiné kandidy čistě bílé. - K rozlišení všech kandid lze použít BIOCHEMICKÉ VLASTNOSTI pomocí zymogramů a auxanogramů.

PRŮKAZ ANTIGENŮ A PROTILÁTEK se provádí u těžkých forem a sepsí (precipitace, aglutinace)

### **Léčba**

U slizničních forem se užívá clotrimazol (Canesten) v různých lékových formách, u systémových forem pak klasická antimykotika, jako je nystatin, amfotericin B a imidazolová antimykotika (miconazol, ketoconazol, novější fluconazol a itraconazol).

## **Původci systémových mykóz**

jsou houby, které zpravidla nepostihují člověka často a u zdravého člověka k infekci nedochází, nebo proběhne bez příznaků či mírně. Nákaza je častá u pacientů s postiženou imunitou včetně postižených AIDS. Zvláštní podskupinou jsou houby, které se vyskytují běžně v prostředí (známe je jako "plísňe" napadající potraviny), které ve výjimečných případech způsobují závažná onemocnění (Mucorales, Aspergillus)

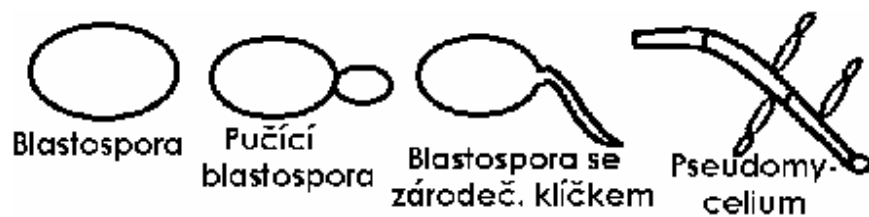
### **Význam a rozdělení**

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS postihuje primárně plíce, ale může postihovat také jiné orgány včetně CNS. Bez včasné léčby končí onemocnění vždy smrtí.

ASPEGRILLUS (plíseň štětičková) je velmi běžný v prostředí. Může jednak produkovat jedy (aflatoxiny), jednak působí záněty plic, astma, nejrůznější dýchací i jiné komplikace. Občas se vyskytne ohraničené ložisko - aspergilom.

MUCORALES (zástupce Mucor = plíseň hlavičková) jsou pravé plísňe (to se pozná podle toho, že jejich "podhoubí" není rozdělené přepážkami). Velmi rychle se šíří a mají afinitu k cévám. I v dnešní době končí naprostá většina onemocnění smrtí a diagnostika se provádí teprve na pitevně.

HISTOPLASMA, COCCIDIOIDES a několik dalších druhů se vyskytují především v obou Amerikách. U histoplasmy je zajímavé, že parazitické stádium je kvasinkovité, kdežto saprofytické vláknité (tedy naopak než u kandidy). Postihují zpravidla plíce, popř. trávicí a jiná ústrojí.



### **Přenos**

Zpravidla vzduchem, zdrojem může být prach, zvířecí trus apod.; u aspergilů a Mucorales jsou spory všudypřítomné.

### **Diagnostika**

Vedle přímého mikroskopického a kultivačního průkazu se zpravidla provádí nepřímý (serologický) průkaz. Např. u aspergilů je to nezbytné už proto, že jinak není zaručeno, že nalezený aspergillus není kontaminací z prostředí. Využívá se např. KFR či precipitace (u aspergilů mikroprecipitace v agaru).

### **Léčba**

Antimykotika k celkové léčbě (viz Candida)



# Základy parazitologie

## **Paraziti obecně**

Paraziti jsou mikrobiální patogeny živočišného původu. Někteří paraziti nesplňují definici mikroba (jsou pozorovatelní pouhým okem), ale z praktických důvodů se zařazují do mikrobiologie.

## **Význam a rozdělení**

Paraziti mohou způsobovat nemoci prakticky všech orgánových soustav. To je dáno mj. jejich různorodostí. Parazity je možno členit podle různých kritérií. Souhrnem nejběžnějších členění je následující schéma:

- Paraziti vnitřní (působí jako patogeny uvnitř těla)
  - Prvoci (bičíkovci, výtrusovci, améby...) - např. toxoplasma
  - Červi ploší (ploštěnci)
    - Tasemnice (Cestoda) - např. tasemnice dlouhočlenná
    - Motolice (Trematoda) - např. motolice jaterní
  - Červi oblí (oblovci) - Nematoda čili hlístice - např. škrkavka
- Paraziti vnější (hmyz a roztoči) - např. veš muška

## **Přenos a vlastnosti**

Paraziti vydrží zpravidla méně než bakterie, zato se mohou často aktivně cíleně pohybovat (skrz kůži, napřič naším tělem). Přenos je nejčastěji fekálně-orální, kontakt apod.

## **Diagnostika**

Nejčastěji mikroskopická (průkaz prvoků, vajíček červů), méně často kulturační (např. *Trichomonas*) či nepřímá (serologická - kupříkladu u toxoplasmózy). Bývají též ↑ IgE. Z mikroskop. metod se u střevních parazitů (hlavně červů) používá zejména

- Faustova koncentrační metoda (několikastupňové odstředění)
- Tlustý nátěr podle Kato (pouze jedno odstředění)
- Lepex - speciálně pro roupy (speciální lepicí páska)
- Barvicí metody (Gomoriho trichrom)

## Léčba

Bohužel, ne u všech parazitóz známe adekvátní léčbu. Až na výjimky se používají speciální léky, které neúčinkují na jiné mikroby (bakterie, plísně).

## Prvoci

Jako jednobuněčné organismy mají přece jen blíže bakteriím než červi. Někteří způsobují velmi závažné choroby

### Význam, rozdělení, přenos, diagnostika

**Trypanosomy.** Jsou tři. První dvě jsou africké: *T. gambiense* vyvolává chronickou spavou nemoc, *T. rhodesiense* vyvolává akutní spavou nemoc. Přenášejí se mouchy tse-tse. Průběh: kožní záněť - zduření uzlin - postižení CNS. Třetí je jihoamerická - *T. cruzi*. Vyvolává Chagasovu nemoc. Projevuje se horečkami, zvětšením jater a sleziny, popř. i zvětšením jiných tělních orgánů.

**Leishmanie.** Je jich několik druhů. Některé vyvolávají kožní nemoci ("suchý vřed", "vlhký vřed"). Další působí vedle kůže i na sliznicích. Nejzávažnější jsou útrobní leishmaniózy (kala azar) s příznaky podobnými Chagasově nemoci. Přenášejí ji komáři.

**Giardia lamblia.** Lze pozorovat dvě formy prvoka: trofozoit má dvě jádra a vypadá jako dětský dráček. Cysta má čtyři jádra a je značně odolná. Šíří se fekálně orálně. Jde o průjmové onemocnění, celosvětově velmi časté. Ve vyspělých zemích je častost menší, ale o to horší bývají příznaky.

**Trichomonas vaginalis.** Na rozdíl od giardií netvoří cysty. Postihuje pochvu, vulvu, děložní hrdlo, někdy močovou trubici. Typický je žlutozelený, sladce páchnoucí výtok a mikroskopický obraz (MOP V). U mužů se často klinicky neprojevuje. Přenos zpravidla pohlavní, vzácně poševními sekrety či močí.

**Entamoeba histolytica.** Jedná se o amébu - měňavku. Lze pozorovat trofozoity, ale častěji cysty, které mají zpravidla 4 jádra. (To je důležitý poznávací znak - vcelku neškodná *Entamoeba coli* jich má více). Za určitých okolností napadá střevní sliznici a tudý se dostává do nejrůznějších orgánů těla.

**Jiné měňavky.** Patří sem (jen pro zajímavost) druhy *Naegleria*, *Acanthamoeba* či *Balamuthia mandrillaris*. Tyto měňavky žijí volně, člověk se nakazí zřídka, ale když už se nakazí, tak to stojí za to. (Je to něco podobného jako mezi houbami právě plísně).

**Toxoplasma gondii.** Tento parazit má dvě možnosti: buďto prodělá celý vývoj v kočce, nebo pro jeho část použije mezihostitele, přičemž nepohrdne člověkem. Bez kočky se ovšem neobejde. V přenosu hrávají roli i potraviny. Naprostá většina případů je bezpříznakových, ale mohou nastat komplikace oční, CNS aj. Nebezpečné je onemocnění těhotných.

**Malarická plasmodia.** Jsou čtyři: jedno vyvolává tzv. tropickou malárii, dvě vyvolává malárii třídenní a čtvrté čtyřdenní. Malárie je nejvýznamnější tropické onemocnění. Přenáší se komárem *Anopheles*. Člověk je mezihostitelem - parazit v něm prodělává nepohlavní část svého vývoje. Parazit je závislý na teplotě, proto se v Evropě malárie nešíří. Může tu ale dojít k tzv. "letištní malárii" (viz výklad učitele). Malárie postihuje erythrocyty. Projevuje se bolestmi hlavy a svalů, nevolností, později mrazením, třesavkou, horečkou a pocením. Záchvaty se pravidelně opakují po týdny až měsíce, zpravidla postupně slábnou. Komplikace jsou časté hlavně u tropické malárie.

**Babesie.** Způsobují různá onemocnění od horečky s únavou až po smrtící horečnatou žloutenku. Jsou velmi vzácné, nicméně se zřejmě vyskytují i v Evropě.

**Sřevní kokcidie** jako je *Cryptosporidium parvum* vyvolávají zpravidla nekrvavé průjmy. Závažnější onemocnění vyvolávají tzv. mikrosporidie.

***Balantidium coli*** (nálevník). Běžný parazit prasat. U člověka krvavé průjmy, možný je rozsev do různých orgánů.

***Pneumocystis carinii*.** Je to pozoruhodný organismus - něco mezi prvokem a houbou. Přenáší se zřejmě i vzduchem. Trofozoiti mají mnoho povrchových výběžků. Těmi se nalepí na stěnu plicní buňky. Častý je nález u imunokompromitovaných osob (včetně AIDS).

## Léčba

Na mnohé prvoky (včetně trichomonád) platí metronidazol (Avrazor) a podobné preparáty. Na malárii platíval chinin. Dnes se používá dalších derivátů (Chlorochin apod.). U malárie se také doporučuje prevence. Ta spočívá jednak v ochraně před komáry (dlouhé nohavice aj.), jednak v užívání antimalarik (zcela výjimečný případ, kdy se antimikrobiální lék užívá preventivně!) U *Pn. carinii* je výjimka - používají se antibiotika.

## Motolice - Trematoda

Jsou to ploší „červi“ měřící několik mm až cm. Mají přísavky, někdy i trny. Na rozdíl od tasemnic se vyskytují po celém těle.

### Význam, rozdělení, přenos, diagnostika, léčba.

**Schistosomy.** Způsobují schistosomózy - dříve bilharziózy. U *S. haematobium* se vajíčka hromadí v kapilárách urogenitálního systému, u *S. mansoni* a *S. japonicum* ve střevě a játrech. Člověk se nakazí hlavně v tropech a subtropích ve sladké vodě larvami, které do té doby parazitovaly na vodních plžích. Nemoc se projevuje horečkou s různými příznaky (hematurie nebo průjem).

**Jaterní, plicní a sřevní motolice.** Člověk se nakazí od meziphostitele, což může být vodní rostlina, ryba, krab apod. Příznaky velmi různé (horečky, žloutenky, postižení CNS a říz. jiné). - Dg. motolic: mikroskopická. Léčba: praziquantel.

## Tasemnice - Cestoda

Mohou být mnohem větší než motolice, ne ale všechny.

### Význam, rozdělení, přenos

**Tasemnice dlouhočlenná** - *Taenia solium* (2 - 3 m) a **tasemnice bezbranná** - *Taenia saginata* (3 - 10 m) jsou klasické tasemnice: dlouhočlenná prasečí, saginata hovězí. U svých hlavních hostitelů dělají ve tkáních boubele (cysticerky). Prasečí je může u dělat i u člověka, hovězí nikoli. Obě jinak žijí s mírnými příznaky ve střevě. Člověk se nakazí obvykle sněžením boubele.

**Škulovec široký** - *Diphyllobothrium latum* (až 10 m) - rybí tasemnice. Mírné příznaky, může být přítomna anemie (tasemnice bojuje s hostitelem o vitamin B 12).

**Tasemnice dětská** - *Hymenolepis nana* (7 - 40 mm) žije v tenkém střevě. Ve střevě bývá i několik desítek. Přenáší se hlavně v dětských kolektivech. Nespecifické příznaky.

**Měchožil zhoubný** - *Echinococcus granulosus* (2 - 10 mm) je malá, leč nebezpečná tasemnice. Hlavním hostitelem je pes. V lidském střevě se z vajíčka uvolňuje embryo, které pronikne sřevní stěnou a dostává se do jater, plic, mozku, kostí i jinam. Tam tvoří cysty až 20 cm velké. Z vnitřní stěny cysty pučí dceřiné zárodky (hlavičky) tasemnice. Velmi nebezpečné je protřžení cysty, např. při chirurgických výkonech, kdy se cysta považována za neinfekční cystu nebo za nádor.



## Diagnostika; léčba

Mikroskopie, u měchožila serologie; praziquantel, niklosamid, u měchožila mebendazol.

## Hlístice - Nematoda - Oblovci („červi oblí“)

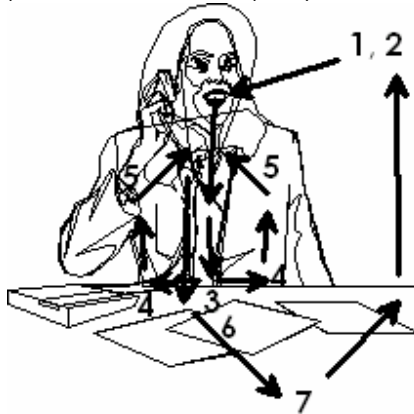
Na rozdíl od „červů“ plochých (se kterými nejsou vůbec příbuzní) mají kruhový průřez. Nejsou článkované, mají oddělená pohlaví a mají ústa a střevo (na rozdíl od plochých červů, kteří přijímají potravu celým tělem).

### Význam, rozdělení, přenos, zvláštnosti diagnostiky

**Háďátko střevní** - *Strongyloides stercoralis* - v ČR vyskytuje ojediněle. Larva migruje tělem, proto příznaky od kožních přes plicní až po trávicí a jiné. Diagnostika mikroskopii a ELISou.

**Měchovci** - rody *Ancylostoma* a *Necator*. Rovněž v ČR ojediněle. Kožní a plicní příznaky, anémie, deficit proteinů aj.

**Roup dětský** - *Enterobius vermicularis*. Jeden z nejčastějších parazitů i u nás. Samička klade vajíčka do řas v okolí řiti dítěte. Zde vajíčka rychle dozrávají. Jsou-li pozřena (dítě se škrábe a pak si cucá prsty - autoinfekce), dospívají pak ve střevě. Projevuje se hlavně neklidem a nespavostí. Komplikací mohou být dívčí poševní výtoky. Diagnostika LEPEXem, který se nalepí na řiť a pak na podložní skličko. Při profylaxi nutná dekontaminace osobních věcí.



**Škrkavka dětská** - *Ascaris lumbricoides*. Dlouhá 10 - 30 cm. Životní cyklus: (1) vajíčko ve vnějším prostředí - (2) v něm se vyvine larva, čímž se vajíčko stane infekčním - (3) po pozření se larva uvolní - (4) proniká střevní stěnou - (5) lymfatickými a krevními cévami se dostane do plic - (6) odtud vzhůru do hltanu a trávicím ústrojím do střeva - (7) zde dospívají a jsou vylučovány, kruh se uzavírá. Potíže mohou vznikat při migraci larev (kašel, bolesti hrudníku, krev ve sputu; ev. postižení mozku, ledvin) či při pobytu ve střevě - možnost ucpání žlučových a vývodů pankreatu. Ve stolici se prokazují vajíčka.

**Škrkavka psí a kočičí** - rod *Toxocara*. Životní cyklus je podobný jako u šk. dětské, avšak člověk je nevhodným

hostitelem, a proto se šk. obvykle nedostanou do střeva a bloudí různými orgány s příslušnými příznaky. Jen serologická diagnostika.

**Filárie** (různé druhy). Tropičtí červi, vyvolávají různá onemocnění, hlavně v lymfatickém systému (často kožní a podkožní lymfatické cévy). Jsou přenášeni komáry, ovády nebo muchničkami. Jeden druh vyvolává tzv. říční slepotu. Výjimečně se objeví tzv. elefantiáza - mnohonásobné zvětšení končetin, šourku, prsů nebo vulvy, vzniklé zábranou odtoku lymfy. Diagnostika mikroskopická.

**Vlasovec medinský** - *Dracunculus medinensis* je něco podobného. Často se vyskytuje v podkoží, kde samička klade vajíčka. Tradiční léčebná metoda je zachycení samičky při kladení do rozštěpu dřívka a její postupné vytažení z podkoží navíjením. Od toho je odvozen znak lékařské profese (později se začalo hovořit o "hadovi" - Eskulapova užovka).

**Tenkohlavec lidský** - *Trichuris trichiura*. Až 5 cm dlouhý červ. Žije zavrtán v epitelu tlustého a slepého střeva, zadek vystrkuje do jeho průsvitu. Vajíčka jsou vylučována stolicí. Nemá mezihostitele. Různě velké trávicí obtíže, anémie.

**Svalovec stočený** - *Trichinella spiralis*. Dlouhý jen několik mm. Žije krátkou dobu ve střevním epitelu. Samičky tu po kopulaci rodí živé larvy, které odtud migrují krví a lymfou do příčně pruhovaných svalů. Tady se opouzdří. Totéž dělá i u zvířat (prase). Člověk se tedy zpravidla nakazí masem nakažených zvířat. Jde o těžké onemocnění, ohrožující život.

## **Léčba chorob vyvolaných oblovcí**

Nejdůležitější jsou benzimidazolové preparáty - mebendazol, thiabendazol, levamisol. Na rousy se používá Pyrinium, na škrkavky vedle benzimidazolů také piperazin.

## **Ektoparaziti - Členovci**

Členovci vlastně nepatří do mikrobiologie, protože jsou pozorovatelní pouhým okem nebo lupou. Z praktických důvodů jsou ale do učebnic zařazováni.

### **Význam, rozdělení, přenos, diagnostika, léčba**

Členovci mají význam 1) jako obtěžující 2) jako vyvolávající druhotně choroby (alergie, ekzémy, bakteriální infekce poškozené kůže, zhnisání rány pro přisátí), 3) jako přenašeči infekcí. Někteří členovci se projevují jako pasivní přenašeči infekce, aniž by byli parazity v pravém slova smyslu.

**Klíšťáci** - čeleď *Argasidae*. Asi centimetroví členovci Napadají hlavně holuby. Svých hostitelů se nedrží. Přenášejí některé choroby. Napadení se projeví začerváním a svěděním.

**Klíšťata** - čeleď *Ixodidae*. Měří 5 až 10 mm. Larvy mají tři páry nohou, dospělci čtyři. I larvy a nymfy sají s oblibou krev. Vyskytují se zpravidla ve smíšených a listnatých lesích s křovinami. Zpravidla se nevyskytují na horách. Rezervoárovými zvířaty jsou drobní hlodavci. V oblastech s výskytem klíšťat je třeba často se prohlížet. Odstranění klíštěte se dnes doporučuje provádět pinzetou se skosenými konci nebo opatrně nehty v gumových rukavicích. Vhodné je desinfikovat ránu jódovým preparátem. Následkem štipnutí může být drobné zarudnutí, které je třeba odlišit od (plošně mnohem většího) zarudnutí u lymeské boreliózy. Ta je klíšťaty přenášena stejně jako klíšťová encefalitida a klíšťová ehrlichioza.

**Zákožka svrabová** - *Sarcoptes scabiei*. Veliká 0,2 až 0,5 mm. Samičky si vyrtávají chodbičky v kůži. Přenáší se mezilidským kontaktem (často v kolektivech - domovy důchodců, útulky pro bezdomovce apod.). Ekzém je prakticky nedílnou součástí choroby. Zákožky se s oblibou vyskytují na sraštělé kůži. Diagnóza je nesnadná (odlišení svrabového ekzému od ekzému jiného původu) a provádí ji zkušený dermatolog. Lze také provádět seškrab po rozvolnění kůže 5 - 10 % KOH. Seškrab se pozoruje pod mikroskopem. Léčba: potírání kůže Jacutinem.

**Sametka podzimní** - *Neotrombicula autumnalis*. Není závažná, vyskytuje se na podzim. Působí začerváním a svěděním. Po 2 - 3 dnech odpadne. Léčba nebývá nutná.

**Trudníci** - *Demodex*. Drobní roztoči (0,3 mm), ucpávající chlupové folikuly. Jejich význam je nejasný. Mají nápadně protažený zadeček. Léčba není nutná.

**Vši** - *Anoplura*. Veš dětská (hlavová) je běžná u dětí, které se snadno nakazí v kolektivu (školka, tábor). Nákaza není pro rodinu ostudou, pokud je včas řešena. Veš šatní nežije na těle, ale v šatstvu. U nás se často vyskytuje v útulcích bezdomovců apod. Veš muňka (lidově filcka) se vyskytuje výhradně v pubickém ochlupení a její nákaza je vlastně pohlavně přenosnou chorobou. Jiný přenos (prádlem) je značně nepravděpodobný. Vši vyvolávají pupence, otoky, muňka namodralé skvrnky. Některé vši přenášejí choroby. K léčbě a prevenci se t. č. používá Diffusil H92M, ale může se vyvinout rezistence.

**Štěnice** - *Cimex lectularius*. Je to vlastně ploštica. Ráda se ukrývá ve škvírách. Živí se výhradně krví. Viz obr.

**Dvoukřídlí** - *Diptera*. Komáři, komárci, muchničky apod. působí jako přenašeči různých chorob, obvykle pasivní. Při prevenci je důležité zničení přirozených líhnišť (zejména u komárů). Některé mouchy kladou larvy do ran či tělních dutin. Tomu se říká myiáze.

**Blechy** - *Siphonaptera*. Blechy se významně uplatnily při morových epidemiích. Kromě typického lidského druhu *Pulex irritans* napadají někdy člověka i zvířecí druhy. Viz obr.

## Kroužkovci

Ke kroužkovcům patří např. žížaly. Parazitem je pijavka lékařská, která se dříve používala k "pouštění žilou". Lékařský zájem k použití pijavek se nyní vrací. Moderní medicínu zajímá hirudin - látka s antikoagulačním účinkem. Viz obr.

# Klinická mikrobiologie

## Spolupráce oddělení a laboratoře

5. Kdy je potřeba mikrobiologické vyšetření?

Často se provádí zbytečně, a naopak se neprovede tam, kde by se mělo. Obecně nemá smysl vyšetřovat, když lékař bude léčit bez ohledu na výsledek stejně. Někdy jde také o to, jestli odebrat vzorek jen na bakteriologii, nebo i na plísně, protilátky proti kterým infekcím vyšetřit apod. Rozhodnutí má v rukou lékař.

6. Odběr vzorku

**2A. Volba vhodného vzorku.** Není vždy samozřejmé. Např. u plicních infekcí je nutný vzorek vykašlaného sputa, nestačí výtěr. Ani u sinusitid nestačí výtěr z nosu, je nutný výplach nebo speciální výtěr. **2B. Načasování.** Má význam hlavně u nepřímého průkazu (odběr dvou vzorků, sleduje se pohyb v množství protilátek). Jinak je potřeba odebrat PŘED zahájením antibiotické léčby. **2C. Vlastní odběr** Musí se zachytit mikroby z odebíraného místa, ale ne z okolí. U odběru moči je potřeba **omýt ústí močové trubice**. Důležité je použití **správné odběrové soupravy**. Na bakteriologii se většinou užívá transportních půd. Univerzální je půda Amiesova jako tampon na tyčince či na drátku. Tu lze použít pro výtěry a stěry ze všech přirozených i umělých tělních otvorů a povrchů, včetně vyšetření na anaeroby, na kapavku či stolice na campylobactery. Při cíleném mykologickém vyšetření se používá jiná speciální půda, stejně jako u virů a chlamydií (tam ale bývá lepší výplach než výtěr). Speciální je i půda C. A. T. (k poševním výtěrům, na kvasinky a trichomonády - neurčí přítomnost bakterií). Tekuté a kusové vzorky (vč. mozkomíšního moku a krve na serologii) se posílají ve **sterilních zkumavkách a tzv. sputovkách**, což jsou vlastně širší zkumavky - nejen na sputum. U krve na serologii cca 2 ml při jednom vyšetření, 5 ml při více. Barevné rozlišení zátky má význam jen při třídění vzorků. Na anaeroby nejlépe **přímo ve stříkačce bez vzduchu** s jehlou zabodnutou do sterilní zátky. Na hemokultury (kultivaci krve při sepsích - neplést se zasíláním krve na serologii!) se používaly lahvičky s protisrážlivou tekutinou, dnes se spíše užívají lahvičky, ve kterých je už přímo kultivační půda (pro automatickou kultivaci). Odebírá se 10 ml u dospělých, 5 ml u dětí, 2 ml u novorozenců. Na plísně se zasílají **nehty, vlasy, šupiny** aj. Stolice: na bakteriologii **výtěr**, na viry a parazity **kousek stolice** o objemu 1 - 2 cm<sup>3</sup>. - Výjimečně se posílá nátěr na sklíčku (mikrobiál. obraz poševní, aktinomykóza).

7. Vyplnění průvodky

Vedle jména pacienta, pojišťovny aj. je potřeba přesně napsat: **A. Co to je za materiál** ("Stěr z rány" nestačí - uvést co je to za ránu, kde na těle...) **B. Co se požaduje za vyšetření** (u serologie přesně serologie čeho se požaduje, u bakteriologie aspoň požadavky na anaerobní kultivaci apod.) **C. Skutečná diagnóza** může hodně napovědět a urychlit diagnostiku; k tomu patří i údaj, jde-li o odběr před léčbou, po léčbě apod. **D. Antibiotika**, která se chystá lékař nasadit nebo už je nasadil. **E. Další údaje o pacientovi** (návrat z tropů, práce se zvířaty, s hnojem apod.), **F. U serologických vyšetření datum příznaků** a údaj, zda se jedná o první či druhý, případně další vzorek.

8. Zaslání do laboratoře

Materiál je třeba dopravit do laboratoře **co nejdříve, u močí do dvou hodin**. Nelze-li vzorek dodat hned, pak se dává moč do ledničky, ostatní materiály je lepší nechat při pokojové teplotě (umístění do ledničky znamená tepelný šok). Zato virologické vzorky se posílají zpravidla na tajícím ledu.

9. Vlastní zpracování v laboratoři

Tady může oddělení spolupracovat tak, že např. zavolá o **předběžný výsledek** a navrhne případné další dílčí vyšetření atd.

#### 10. Zaslání výsledku

Je nutno se dohodnout na **formě**, popř. na tom, zda má laboratoř poslat průběžný mezivýsledek nebo až konečný výsledek apod.

#### 11. Vyhodnocení výsledku klinickým lékařem

Výsledek z laboratoře ještě není všechno, jde o to, **jak jej použít**. Jde hlavně o to, jestli považovat nějakého mikroba za **škodlivého (patogenního)** nebo spíše za **náhodný nález**, a tedy jestli **léčit nebo neléčit**. Mikrobiolog v tom může poradit, pomoci, ale ne rozhodnout, protože nemá pacienta před sebou. Léčit neexistující infekci je jen o málo menší chyba než neléčit infekci existující. Co se týče vyšetření citlivosti na antibiotika, musí lékař počítat s tím, že nikdy není stoprocentně spolehlivé. Někdy je problém u nepřímého průkazu - co vlastně znamená přítomnost protilátek.

#### 12. Stálá spolupráce

mimo konkrétní vzorky bývá užitečná - lze dohodnout např. **antibiotika**, na která bude laboratoř testovat citlivost určitých mikrobu apod.



### BĚŽNÁ FLÓRA

(1) = "klasická" běžná flóra, která se zachytí při běžné kultivaci

(2) = také normální části běžné flóry, ale běžně se nezachytí pro obřížnou kultivovatelnost

(3) = přechod mezi "normální flórou" a "patogenem" (záleží na množství, okolnostech)

nebo druhá varianta:



(1) = "klasická" běžná flóra, která se zachytí při běžné kultivaci

(2) = také normální částí běžné flóry, ale běžně se nezachytí pro obřížnou kultivovatelnost

(3) = přechod mezi "normální flórou" a "patogenem" (záleží na množství, okolnostech)