

Ondřej Zahradníček:

Klinická mikrobiologie pro bakalářské ošetrovatelské obory

Skripta pro bakalářské obory směru Ošetrovatelství

Obsah

Názvy podkapitol jsou zároveň názvy zkušebních otázek. Výjimkou je podkapitola 13.2, která zahrnuje dvě zkušební otázky, a několik úvodních podkapitol (4.0, 8.0), které jsou vždy společným úvodem k celé kapitole

Téma 1 Přehled mikrobů. Patogenita a virulence. Jednotlivé skupiny mikrobů – 3

- 1.1 Jednotlivé skupiny mikrobů
- 1.2 Patogenita a virulence
- 1.3 Průběh infekčního procesu a faktory, které se na něm podílejí

Téma 2. Přehled mikrobiologických vyšetřovacích metod – 8

- 2.1 Cíle a základní rozdělení mikrobiologických metod. Pojmy kmen a vzorek
- 2.2 Metody přímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)
- 2.3 Metody nepřímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

Téma 3 Desinfekce a sterilizace – 18

- 3.1 Mikroby a prostředí, chování mikrobů při změnách jednotlivých faktorů v prostředí
- 3.2 Zásady praktického použití dekontaminačních metod
- 3.3 Přehled nejdůležitějších dekontaminačních metod

Téma 4 Antimikrobiální látky – 23

- 4.0 Úvod
- 4.1 Peniciliny, cefalosporiny, glykopeptidy a chinolony (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)
- 4.2 Aminoglykosidy, makrolidy, tetracykliny, linkosamidy a chloramfenikol (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)
- 4.3 Primární a sekundární rezistence mikrobů, ESBL, MRSA, VRE a jejich význam. Atb střediska
- 4.4 Kvalitativní a kvantitativní testy citlivosti na antibakteriální látky, význam MIC

Téma 5 Respirační infekce – 31

- 5.1 Etiologie a dg. nevírových infekcí HCD a ucha, způsoby odběru a interpretace nálezů
- 5.2 Etiologie a dg. nevírových infekcí DCD, způsoby odběru a interpretace nálezů
- 5.3 Respirační infekce virové etiologie, odběr a transport materiálu, interpretace výsledků

Téma 6 Infekce trávicího traktu – 36

- 6.1 Hlavní původci průjmů
- 6.2 Vyšetření stolice na jednotlivé skupiny mikrobů

Téma 7 Močové infekce – 41

- 7.1 Hlavní původci močových infekcí
- 7.2 Zásady odběru a transportu moče na bakteriologické vyšetření
- 7.3 Semikvantitativní vyšetření moče, interpretace nálezů

Téma 8 Pohlavně přenosné nemoci a nemoci kůže – 45

- 8.1 Klasické pohlavní nemoci - přehled, odběr materiálu, přehled diagnostiky
- 8.2 Nemoci pohlavních orgánů, které nepatří mezi klasické pohlavní nemoci
- 8.3 Infekce v těhotenství, infekce plodu a novorozence
- 8.4 Nemoci projevující se na kůži a jejich diagnostika. Infekce oka (základní přehled)

Téma 9 Infekce krevního řečiště. Vybrané infekce postihující celý organismus (systémové infekce). Infekce nervového systému – 54

- 9.1 Etiologie a diagnostika sepsí a endokarditid, odběry a interpretace nálezů
- 9.2 Infekční hepatitidy a AIDS
- 9.3 Etiologie a dg. purulentních meningitid
- 9.4 Etiologie a dg. virových infekcí CNS a boreliózy

Téma 10 Nozokomiální nákazy – 62

- 10.1 Nozokomiální nákazy - charakteristika, rozdělení, hlavní původci
- 10.2 Prevence a hlášení nozokomiálních nákaz

Téma 11 Hnisavé a anaerob. infekce – 66

- 11.1 Etiologie a diagnostika infekcí ran, způsoby odběru
- 11.2 Etiologie a diagnostika infekcí kostí, kloubů a svalů
- 11.3 Anaerobní infekce - původci, transport materiálu, zásady diagnostiky

Téma 12 Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky – 72

- 12.1 Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu
- 12.2 Přehled základních odběrových souprav a nádobek
- 12.3 Správně vyplněná průvodka a její význam

Téma 13 Základy klinické mykologie a parazitologie – 77

- 13.1 Původci mykóz, vyšetřovací metody v mykologii
- 13.2 Paraziti a jejich diagnostika
(Zahrnuje dvě zkušební otázky: „Střevní paraziti a jejich vyšetřování“ a „Paraziti a jejich diagnostika – kromě střevních“)

Téma 1 Přehled mikrobů. Patogenita a virulence.

1.1 Jednotlivé skupiny mikrobů

V zásadě si můžeme definovat pět skupin klinicky významných mikrobů. Nebude to rozdělení kompletní – chybějí například bakteriím příbuzné sinice, která mohou mít také klinický význam (zejména z důvodu toxických a alergických účinků). Přesto toto rozdělení má svou logiku a má smysl se ho držet. V dalším textu bude pojednáno pouze o rozdělení virů a parazitů – priony nemá smysl dále klasifikovat a houbám a parazitům je věnováno Téma 13.

1. **Priony** (neobsahují nukleovou kyselinu, např. původce „nemoci šílených krav“)
2. **Viry** (DNA a RNA, obalené a neobalené)
3. **Bakterie** (tyčinky, koky, spirochety; grampozitivní, gramnegativní)
4. **Mikroskopické houby** (kvasinky a plísně)
5. **Paraziti** (živočišné patogeny): vnější (členovci) a vnitřní (prvoci, oblovci, ploštěnci)

1.1.1 Rozdělení virů

Viry dělíme na DNA-viry a RNA-viry.

1.1.1.1 DNA VIRY: patří mezi ně například

herpesviry – virus prostého oparu, virus pásového oparu + neštovic, EB virus, cytomegalovirus, virus šesté dětské nemoci

adenoviry – zodpovědné např. za některé respirační virózy

papovaviry – například urogenitální papilomaviry

parvoviry – například původce páté dětské nemoci

virus žloutenky B

1.1.1.2 RNA viry: patří mezi ně například

enteroviry – viry dětské obrny a tzv. coxsackieviry a ECHOviry, dělající různé infekce

rhinoviry – viry rýmy

viry chřipky, parachřipky, spalniček, zarděnek, příušnic

viry žloutenek A, C, D, E

různé viry klíšřových encefalitid, tropických viróz, vztekliny, horeček Lassa a Ebola

virus HIV

Viry také můžeme dělit na obalené a neobalené.

1.1.2 Rozdělení bakterií

1.1.2.1 podle tvaru a uspořádání

- **koky** – kulovité, mohou tvořit dvojice, řetězky, shluky...
- **tyčinky** – protáhlé, mohou být rovné, zahnuté...
- **kokotýčinky** (kokobacily) – přechod mezi koky a tyčinkami
- **spirochety** – ve tvaru spirály
- **bez tvaru** – mykoplasmata nemají buněčnou stěnu, a tedy ani tvar

1.1.2.2 podle tzv. Gramova barvení (je to dáno typem buněčné stěny)

- **grampozitivní** – barví se modře (tlustá, jednoduchá buněčná stěna)
- **gramnegativní** – barví se červeně (tenká, zato složitá buněčná stěna)
- **Gramem se nebarví** – jiný typ stěny (mykobakteria) nebo stěnu nemají (mykoplasmata), jsou příliš tenké a proto se nebarví (spirochety) apod.

1.1.2.3 podle vztahu ke kyslíku

- **striktně aerobní** (rostou pouze v přítomnosti kyslíku)
- **striktně anaerobní** (vyžadují atmosféru bez kyslíku; některé z nich opravdu hynou už při stopových množstvích O₂)

- **fakultativně anaerobní** (dokáží „přepínat metabolismus“ a přizpůsobit se)
- **aerotolerantní** (metabolismus „nepřepínají“, ale také se přizpůsobí, v praxi neodlišitelné od předchozích)
- **mikroaerofilní** (potřebují kyslík, ale musí ho být málo)
- **kapnofilní** (potřebují kyslík, ale také zvýšený podíl CO₂ v atmosféře)

pro praxi se používá často jen dělení na aerobní (rostou za normální atmosféry) a anaerobní (vyžadují atmosféru bez kyslíku)

1.1.3 Přehled klinicky nejvýznamnějších bakterií

1.1.3.1 Nejdůležitější grampozitivní koky:

Staphylococcus: výrazný patogen *S. aureus* („zlatý stafylokok“), většina ostatních jsou tzv.

koaguláza-negativní stafylokoky

Streptococcus: hemolytické (betahemolytické) streptokoky (*S. pyogenes* neboli „streptokok skupiny A“, *S. agalactiae* neboli „streptokok skupiny B“ a takzvané „non-A-non-B“ streptokoky), **viridující** (alfahemolytické) streptokoky (*S. pneumoniae* = pneumokok a takzvané „ústní“ streptokoky), málo významné **streptokoky bez hemolýzy** (gamahemolytické)

Enterococcus: *E. faecalis*, *E. faecium*

Zajímavost: existuje „moravský“ enterokok *E. moraviensis*

1.1.3.2 Nejdůležitější grampozitivní tyčinky:

Listeria, *Corynebacterium* (nejen *C. diphtheriae*), *Bacillus* (ten je sporulující, tj. tvoří spory)

1.1.3.3 Nejdůležitější gramnegativní koky:

Neisseria (*N. gonorrhoeae* – „gonokok“, *N. meningitidis* – „meningokok“, desítky druhů patřících mezi tzv. „ústní“ neisserie)

Moraxella catarrhalis – také *Branhamella catarrhalis*

1.1.3.4 Nejdůležitější gramnegativní tyčinky:

Enterobakterie: obligátní patogeny: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*; oportunní patogeny:

Escherichia coli, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Serratia*,

Gramnegativní nefermentující tyčinky: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*

Poznámka: *Acinetobacter* je spíš kokotyčinka až kok, ale z praktických důvodů bývá řazen sem.

Ostatní: *Haemophilus* (*H. influenzae*, *H. parainfluenzae*), *Pasteurella* (rány po pokousání psem); *Campylobacter*, *Helicobacter*; *Vibrio* (např. *V. cholerae*); *Legionella*, *Bordetella* (*B. pertussis*, původce dávného kašle), *Francisella* (*F. tularensis*, původce tularémie)

1.1.3.5 Nejdůležitější anaeroby:

Clostridium (*C. tetani*, *C. botulinum*, *C. difficile*, *C. perfringens* a jiná tzv. „klostridia plynatých snětí“) – grampozitivní sporulující tyčinky

Actinomyces – původce aktinomykózy (pozor, neplést s houbovou infekcí – mykózou) – grampozitivní dlouhé tyčinky až větvená vlákna

Ostatní anaeroby většinou působí ve směsi. Jejich názvy nejsou zvlášť důležité. Mohou to být grampozitivní tyčinky (*Propionibacterium*) či koky (*Peptococcus*), nebo také tyčinky (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*) či koky (*Veillonella*) gramnegativní.

1.1.3.6 Nejdůležitější spirochety:

Treponema (*T. pallidum* – původce syfilis), *Borrelia* (*B. burgdorferi* – původce lymeské boreliózy), *Leptospira*

1.1.3.7 Nejdůležitější z ostatních bakterií:

Mycobacterium (*M. tuberculosis*, *M. leprae*), *Mycoplasma* (*M. pneumoniae*, *M. hominis*),

Ureaplasma (*U. urealyticum*), *rickettsie*, *chlamydie*

1.2 Patogenita a virulence.

Jsou to pojmy, které se používají k definici významu mikroorganismů pro onemocnění člověka, zvířete či rostliny.

1.2.1 Virulence

Na rozdíl od patogenity představuje okamžitou vlastnost konkrétního **kmene** mikroba (kmen je populace mikroba vzešlá z jedné buňky, více k pojmu „kmen“ je uvedeno dále).

Kmeny tedy mohou být

- **avirulentní** – tedy v daném okamžiku úplně neškodné, neschopné napadat makroorganismus
- **méně či více virulentní** – tedy disponující různou mírou schopnosti napadnout makroorganismus.

Avirulentní kmen se může stát virulentním například v důsledku mutace nebo třeba i tím, že bakterie sama je napadena svým virem (bakteriofágem). Stejně tak se ale může virulentní kmen stát méně virulentním či avirulentním. Je například běžně pozorováno, že bakterie snižují svou virulenci, pokud je opakovaně pěstujeme na umělých kultivačních médiích.

1.2.2 Patogenita

je **vlastnost určitého mikrobiálního druhu** ve vztahu k danému makroorganismu (v našem případě člověku, jindy zvířeti, rostlině). Z hlediska patogenity existují **tři skupiny mikrobů**:

1) **Nepatogenní: nejsou schopny** vyvolat u daného živočišného druhu nemoc.

Většinou je to proto, že se vůbec neumějí v makroorganismu (= člověku) uchytit.

Opačná možnost – tedy že jsou naopak tak dobře adaptované na člověka, že s ním dokáží použít, aniž by vyvolávaly nemoc – je teoreticky také možná, jenže skoro vždycky hrozí, že rovnováha se poruší a nemoc nastane. V tom případě už ale nemůžeme označit takový druh mikroba za nepatogenní.

Dalo by se také říci, že u nepatogenních bakterií nepřipadá v úvahu, že by některý jejich kmen byl virulentní.

2) **Potenciální (oportunní) patogeni** jsou takové mikroby, které vyvolávají chorobu jen někdy, jindy jsou "hodné". Typicky jsou to bakterie, které jsou zvyklé s člověkem žít v pokoji (a velmi často jako součást jeho běžné flóry). Typickým příkladem je *Escherichia coli* – známá součást běžné mikrobiální flóry střeva.

K infekci potenciálním patogenem dojde zpravidla

- V případě **průniku bakterie na jiné místo** než kde se vyskytuje normálně: u *Escherichia coli* například do močových cest (je nejběžnějším původcem močových infekcí!), do rány, do břišní dutiny apod.
- V případě **výskytu kmene se zvýšenou virulencí** i na původním místě (existují např. enteropatogenní kmeny *Escherichia coli*, které způsobují průjem novorozenců a kojenců)
- V důsledku **přítomnosti nějakých faktorů, které ovlivňují vztah mikrob – makroorganismus**: narušení rovnováhy mikrobiální flóry, základní onemocnění, porucha imunity a podobně

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.). Přesto by se dalo říci, že typickým výsledkem interakce potenciálního patogena s makroorganismem je jejich soužití (a infekce je spíše výjimečný stav), u obligátního patogena je naopak typickým výsledkem infekce, klidné soužití je prakticky vyloučeno.

Skutečných obligátně patogenních mikrobů je ze všech mikrobů vlastně velice málo.

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

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

1.2.3 Faktory zodpovědné za virulenci, respektive patogenitu

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. **Neurotoxin**, které ovlivňují nervovou soustavu. Například tetanický toxin působí křeče, botulotoxin naopak obrny.
 - B. **Enterotoxin**, 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 podílejí na **boji s obrannými mechanismy hostitele**: např. pouzdra čili kapsuly, které zabraňují pohlcení mikroba buňkou makroorganismu, různorodost antigenních variant (u chřipky) aj.

1.2.3 Planktonická forma života a biofilm

Hovoříme-li o virulenci mikroba, nesmíme zapomenout na schopnost mikrobů tvořit tzv. **biofilm**. Biofilm není výsadou klinicky významných mikrobů – biofilm byla ta slizká vrstva na kameni, po které jste uklouzli v rybníce, nebo to, co musí akvaristé pravidelně drhnout ze stěn akvária. Biofilm je vysoce organizovaný strukturovaný útvar, složený nejen z mikrobů (většinou většího počtu druhů), ale i z hmot těmito mikrobi produkovaných. Biofilm jako celek je daleko odolnější vůči vnějším vlivům, ať už fyzikálním, chemickým (včetně antibiotik) nebo biologických. Je-li biofilm tvořen běžnou bakteriální mikroflórou, chrání organismus před vpádem patogenů. Naopak tvoří-li biofilm patogen, stává se léčba takové infekce mnohem obtížnější než kdyby mikrobi nebyly v biofilmu (opakem biofilmu je takzvaná **planktonická forma života**).

1.3 Průběh infekčního procesu a faktory, které se na něm podílejí

1.3.1 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.

1.3.2 Forma infekce

1.3.2.1 Podle rozsahu postižení organismu:

lokální (omezená na jednu sliznici, tkáň orgán)

celková (systémová, celotělová)

1.3.2.2 Podle vyjádření příznaků:

1.3.2.2.1. **bezpříznaková** (asymptomatická, inaparentní)

1.3.2.2.2. **příznaková** (symptomatická):

- **abortivní průběh**: nemoc proběhne, ale namísto typických příznaků dojde jen k nespecifickým celkovým („chřipkovým“) příznakům – teplota, svalové bolesti apod.
- **typický průběh** („učebnicový“)

- **komplikovaný průběh** (těžší, než obvykle, resp. kromě obvyklých příznaků i např. přechod na další orgány a podobně)
V průběhu infekce může dojít k **superinfekci** jiným mikrobem. Může také dojít ke **koinfekci** dvěma různými mikroby.

1.3.3 Vylučování mikrobů 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.

1.3.4 Co ovlivňuje formu infekce

- **faktory na straně mikroba:** zejména vybavenost jednotlivými faktory virulence – je u každého mikrobiálního kmene jiná
- **faktory na straně makroorganismu:** stav imunity, stav anatomických bariér – kůže, sliznice (např. zda není oslabena kouřením), stav funkčních mechanismů – kýčání, střevní peristaltika, vypuzování mikrobů z močové trubice proudem moče)
- **faktory týkající se setkání mikroba a makroorganismu:** za jakých okolností k němu došlo, jakou infekční dávkou a podobně

Téma 2. Přehled mikrobiologických vyšetřovacích metod

2.1 Cíle a základní rozdělení mikrobiologických metod. Pojmy kmen a vzorek

2.1.1 Cíle 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, od **náhodného nálezu**, který se např. do úst zatoulal s potravou, a také od **kontaminace**, tedy od mikrobů, které se do vzorku přilepily omylem cestou. Toto odlišení probíhá částečně v laboratoři a částečně na klinickém pracovišti.

V některých případech (u většiny bakterií a kvasinek, ne však u ostatních mikrobů) existuje vedle určení původce další úkol - **určení "in vitro" citlivosti na antimikrobiální látky**. "In vitro" citlivost (určená v laboratoři) ovšem o skutečné "in vivo" citlivosti v organismu pacienta vypovídá jen částečně. Je to dáno mimo jiné tím, že v laboratoři se mikroby chovají poněkud jinak než ve tkáních.

A do třetice – jsou případy, kdy je nutné **určení faktorů virulence**, neboť samotný nálezn mikroba je nevýznamný, ale důležitý je např. nálezn jeho toxinu, nebo důkaz, že jde o opouzdřený kmen. V řadě případů je velmi významná schopnost mikroba tvořit **biofilm**.

2.1.2 Pojmy vzorek a kmen

2.1.2.1 Vzorek

Vzorek je to, co je odebráno pacientovi a přichází k vyšetření do laboratoře. Nejčastěji se do laboratoře posílá

- **kusový či tekutý materiál** ve zkumavce či jiné nádobce (krev, sérum, moč, mozkomíšní mok, sputum, šupiny, odštěpek kosti, stolice, kousek nehtu...)
- **stěr či výtěr** (z nejrůznějších tělních povrchů a otvorů) na vatovém tamponu, obvykle zanořeném do transportního média.

Odběrům vzorků se věnuje kapitola 12.

2.1.2.2 Kmen

Kmen je čistá kultura („výpěstek“) jednoho druhu mikroba (obvykle bakterie nebo mikroskopické houby). Je to soubor jedinců, kteří mají stejné vlastnosti a zřejmě pocházejí z jediné buňky.

Mikrobiolog nemá možnost pracovat s **jedincem** jak jako zoolog či botanik: jedinec (jednotlivá bakterie či kvasinka) je příliš malý. Práce s kmenem mikrobiologům práci s jedincem nahrazuje. Zjišťovat například biochemické vlastnosti či tvorbu pigmentu u jedné buňky by bylo extrémně náročné. Použije-li se místo toho kmen, je to mnohem jednodušší

Kmen získáme kultivací mikroba na pevné půdě – proto má tato metoda výsadní postavení zejména v diagnostice bakterií.

2.1.3 Přehled metod

Metody, kterými určujeme mikroby, si můžeme rozdělit na:

2.1.3.1 Metody přímé

Pomocí těchto metod **hledáme mikroba jako takového, jeho součást nebo jeho produkt** ve vzorku pacienta. Můžeme si je dále rozdělit:

Přímý průkaz ve vzorku. V tomto případě pracujeme s celým vzorkem. Je potřeba vzít v úvahu, že vzorek zpravidla obsahuje buňky makroorganismu a že předem nevíme, kolik různých druhů

mikrobů je ve vzorku obsaženo – nemusí tam být žádné, ale může jich být v extrémních případech i několik desítek.

Práce s kmenem. V řadě případů nelze pracovat s celým vzorkem – potřebujeme získat **kmen**. Pokud máme k dispozici kmen a určujeme jeho vlastnosti, hovoříme o **identifikaci kmene** mikroba. Některé metody identifikace jsou tytéž, které se používají i k přímému průkazu (např. mikroskopovat se dá jak celý vzorek, tak i kmen). Jiné metody se naopak používají pouze k identifikaci, avšak nikoli k přímé práci se vzorkem (příkladem je biochemická identifikace, která se dá uplatnit pouze máme-li k dispozici čistou kulturu mikroba, tedy kmen).

2.1.3.2 Metody nepřímé

Těmito metodami **hledáme protilátky**. Rozdíl je v tom, že protilátka není součástí ani produktem mikroba - je produktem makroorganismu, i když by bez podráždění daným mikroblem (resp. jeho antigenem) 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 (anebo se setkalo s očkovací látkou, která obsahovala části těla toho mikroba).

2.2 Metody přímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

Název metody	K přímému průkazu	K identifikaci
Mikroskopie	ano	ano
Kultivace (pěstování na půdách)	ano	ano
Biochemické a jim podobné identifikační metody	ne	ano
Pokus na zvířeti	ano	lze použít, ale nedělá se to
Průkaz antigenu/antigenní analýza	ano	ano
Průkaz nukleové kyseliny	ano	lze použít, běžně se nedělá

2.2.1 Mikroskopie

2.2.1.1 Nativní preparát

Nejjednodušší druh mikroskopie: mikrobů se pozorují neobarvené, jen rozmíchané v kapce fyziologického roztoku a přikryté krycím sklíčkem. Nepoužívá se zpravidla imersní systém (viz dále). Nativní preparát se hodí

- na mikrobů (baktérie, prvoky), kteří se **pohybují** (spirochéty, listérie)
- na **velké** mikrobů - především tedy parazity a houby
- samozejmě úplně nejlépe na **velké pohyblivé** mikrobů (jako je bičíkovec *Trichomonas vaginalis*)

2.2.1.2 Mikroskopie v zástinu

Je to zvláštní druh nativního preparátu. V důsledku jiného směrování paprsků je výsledkem světlý objekt na tmavém pozadí. Používá se především u spirochet. V tomto případě se imersní systém (viz dále) používá.

2.2.1.3 Barvené preparáty

Preparáty, které mají být nějak obarvené, musí být nejprve **vysušeny** a poté **zfixovány** - obvykle protažením plamenem. (Fixace zabrání odplavení preparátu v průběhu barvicího procesu.) Poté proběhne vlastní barvení. Obarvený preparát se zase vysuší (např. filtračním papírem) a pozoruje se tzv. imersním objektivem bez krycího sklíčka; mezi objektiv a preparát se kápne kapka imersního oleje.

Jednoduché barvení - používá se například metylénová modř. Dá se provádět i přímo v klinickém pracovišti jako nouzové orientační vyšetření.

Mikrobiologové provádějí většinou **Gramovo barvení**. Je to nejdůležitější barvení v mikrobiologii. Je nazváno po dánském badateli Christianu Gramovi. Rozliší baktérie podle typu **buněčné stěny** na tzv. grampozitivní a gramnegativní; neobarví se bakterie, které buněčnou stěnu nemají

nebo mají stěnu zvláštního typu (tzv. gramem se nebarvící bakterie). Barvení má čtyři kroky, po každém z nich se preparát oplachuje vodovodní vodou. Po posledním oplachu se vysuší. Schéma Gramova barvení uvádí následující tabulka:

Chemikálie	Čas (s)	Jak reaguje grampozitivní bakterie	Jak reaguje gramnegativní bakterie
Violeť	20 – 30	Obarví se na fialovo	Obarví se na fialovo
Lugolův r.	20 – 30	Upevní se vazba barviva na stěnu	Vazba barviva na stěnu se neupevní
Alkohol	15 – 20	Neodbarví se	Odbarví se
Safranin	60 – 120	Nanejvýš trochu změní odstín	Obarví se na červeno

Výsledkem tedy je, že grampozitivní bakterie jsou modrofialové, gramnegativní červené a gramem se nebarvící bakterie se vůbec neobarví.

Různá **speciální barvení** se používají např. na tuberkulózu, na plísně, některé parazity apod. Ke speciálním účelům se používá *fluorescenční barvení*.

2.2.1.4 Interpretace mikroskopie

Použijeme-li mikroskopii jako **přímý průkaz**, 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.

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

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

2.2.1.5 Elektronová mikroskopie

se používá u virů, ale nehodí se k rutinní diagnostice, spíše k výzkumu.

2.2.2 Kultivace

U virů se používá pro tuto metodu pojem izolace

2.2.2.1 Základní pojmy

Kultivace je pěstování mikrobů, zpravidla na umělých půdách. Většinou se při kultivaci mikroby rozmnoží. Mikroskopie je sice nejklasičtější mikrobiologickou metodou, avšak kultivace je zdaleka nejdůležitější (alespoň v případě bakterií a kvasinkovitých hub). Její význam spočívá především v tom, že umožňuje ze **vzorku** (obsahujícího často směs mikrobů a téměř vždy buňky pacienta) izolovat čistý **kmen** ve formě tzv. **kolonií**. To ovšem platí jen pro tzv. **pevné půdy**. Důležité jsou ale i **půdy tekuté**, sloužící zejména k pomnožení mikrobů tam, kde jich bylo získáno málo.

Kmen, jak již bylo řečeno, je populace mikrobů, vzešlá z jedné buňky, bez ohledu na momentální konkrétní formu. Všichni jedinci v rámci kmene mají stejné vlastnosti.

Kolonie je označení konkrétního útvaru, který bakterie a kvasinky vytvářejí při kultivaci na pevných půdách. Teoreticky (a někdy i prakticky) je to potomstvo jedné jediné buňky, uchycené na povrchu pevné půdy. U většiny mikrobů vyroste za den. Pokud odtud mikroba přemístíme, přestává být kolonií, zůstává však kmenem.

Kultivační podmínky zahrnují teplotu, vlhkost, složení atmosféry a podobně. Zpravidla se laboratoř snaží vytvořit mikrobům podmínky blízké těm, které jsou v organismu.

2.2.2.2 Tekuté půdy

jsou půdy pomnožovací. Nejdůležitější je:

Peptonová voda - obsahuje bílkovinný hydrolyzát (to jest: produkt rozkladu bílkoviny na aminokyseliny a polypeptidy). Samotná se používá zřídka, je však mezistupněm k další:

Bujón (masopeptonový 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 přísadkou 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 příkladem půdy **selektivně pomnožovací**. Taková pomnoží jen některé mikroby – v případě selenitového bujónu salmonely (a několik dalších rodů).

2.2.2.3 Pevné (většinou agarové) půdy

Jsou to půdy, jejichž základem je zpravidla **živný agar** - to je bujón, do kterého je přidán výtažek 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.

U kolonií se dají popisovat různé znaky – velikost, barva, tvar, zápach a podobně.

2.2.2.4 Rozdělení pevných půd podle účelu

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 přidávkem ovčích červených krvinek. Využívá se toho, že patogenní druhy bakterií většinou rozkládají červené krvinky (úplná nebo neúplná beta-hemolýza) nebo aspoň mění červený hemoglobin na zelené barvivo (viridace, někdy také alfa-hemolýza). Méně patogenní druhy krvinek nemění (žádná hemolýza, také "gama-hemolýza").

VL-agar je pozměněný krevní agar pro anaerobní bakterie.

Chromogenní agary jsou moderní půdy, které obsahují tzv. chromofory. Chromofor je látka, která by byla barevná, kdyby na ni nebyl navázán specifický substrát. Pokud bakterie či kvasinka substrát odštěpí, chromofor přestává být bezbarvý a kolonie se intenzivně zbarví. Chromofory mohou mít po odštěpení různé barvy a v půdě jich může být několik, s různými navázanými substráty. Tak lze chromogenní půdy rozlišit i přes deset různých bakterií či kvasinek, použijeme-li substráty dostatečně specifické pro dané druhy.

Selektivní půdy jsou takové, na kterých "roste jenom něco". (Podobně jako u tekutých, selektivně pomnožovacích půd). Patří sem např.:

Krevní agar s 10 % NaCl – je selektivní pro stafylokoky. Ostatní klinicky významné bakterie tak vysokou koncentrací NaCl nesnášejí. Je to logické – stafylokoky žijí na (zpacené) kůži.

Poznámka: I když tato půda obsahuje krev, není diagnostická, nelze na ní sledovat hemolýzu. Je tomu tak proto, že je hyperosmolární a tudíž krvinky jsou na ní částečně rozložené i bez přispění bakterie.

Selektivně diagnostické půdy v sobě spojují vlastnosti obou předchozích. Jinak řečeno, jedny bakterie na nich nerostou, druhé bakterie rostou v určitých koloniích další zase v koloniích jiného vzhledu.

Endova půda má svoji *selektivní vlastnost*. Ta spočívá v tom, že na ní rostou pouze gramnegativní (G-) růstově nenáročné 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. Půda samozřejmě obsahuje laktózu, a také – což je příčinou popsaného jevu – obsahuje indikátor (Schiffovo činidlo).

Půdy XLD a MAL se používají k diagnostice salmonel.

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.

Müllerův-Hintonové agar je určen k testování citlivosti bakterií in vitro na antibiotika.

2.2.2.5 Jak se kultivuje na pevných půdách

Na povrch půdy naneseme část vzorku nebo několik kolonií z předchozí kultivace.

Bakteriologickou kličkou toto místo "roztaháme" (rozředíme) po celé misce.

Nyní misku umístíme do termostatu, většinou při 37 °C (lékařsky významným bakteriím tato teplota zpravidla vyhovuje). Většinou kultivujeme 16 - 28 hodin (tedy do druhého dne), někdy ale déle (dva, tři i více dní). Po vyjmutí vidíme na misce kolonie, které můžeme popisovat nebo s nimi provádět další identifikační pokusy.

2.2.3 Biochemická identifikace

je založena na skutečnosti, že každý druh bakterie produkuje jinou sestavu enzymů. 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.

2.2.3.1 Princip biochemických identifikačních testů

je tedy takový, že bakteriím je předložen **substrát** (substráty). Pokud bakterie produkují **enzym** (enzymy), dojde k přeměně substrátu (substrátů) na **produkt** (produkty). V případě, že se produkt(y) liší od substrátu(-ů) barvou, skupenstvím apod., můžeme změnu přímo pozorovat. Pokud změna není viditelná, musí být v reakci přítomen **indikátor**. Nelze-li indikátor mít v reakci od začátku (třeba proto, že by v jeho přítomnosti proběhla špatně nebo neproběhla vůbec), přidává se až po proběhlé reakci ve formě **čínidla**.

2.2.3.2 Katalázová reakce

je velmi jednoduchá biochemická reakce, založená na průkazu enzymu katalázy (štěpí peroxid vodíku). 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. Indikátor není třeba (bublinky jsou viditelné).

2.2.3.3 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 (a někdy ještě po přikápnutí čínidla) se pak sleduje, jestli na reakční plošce dojde k vývoji typického zbarvení (např. modrého, modrozeleného, červeného).

2.2.3.4 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. **Složené testy** využívají vícesubstrátových směsí. Barevná změna pak může být např. jiná u hladiny (prsteneček určité barvy) a jiná v hloubce.

2.2.3.5 Testy 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). Poté se **hodnotí**, u kterých testů došlo ke změně barvy.

Hodnotí se to *pouhým okem nebo automaticky* - čtecím zařízením na principu spektrofotometru. Hodnotí se zpravidla najednou 8 – 30 různých biochemických reakcí.

2.2.4 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. Nejčastěji se používají **myši, morčata, potkani, králíci**. Význam pokusu na zvířeti klesá s rozvojem modernějších metod i s tím, jak si lidé stále více uvědomují, jak je jeho využívání eticky problematické.

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.

2.2.5 Průkaz antigenu

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

2.2.6 Průkaz nukleové kyseliny

Průkaz nukleové kyseliny (většinou průkaz DNA, občas i RNA) je moderní metoda, která umožňuje identifikovat i malá množství mikrobů, mikroby usmrcené, 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 NA se dělí na **metody bez amplifikace** (klasické genové sondy) a **metody s amplifikací (namnožením) určité sekvence nukleové kyseliny**. Nejpoužívanější je dnes **polymerázová řetězová reakce (PCR)**. Podrobnější popis zde neuvádíme, neboť metoda se široce využívá i mimo mikrobiologii a naleznete ji tedy v jiných předmětech.

Je však alespoň potřeba říci, že metoda není ani „všelékem“ ani „moderní zbytečností“ – oba názory se občas vyskytují. Má své místo mezi ostatními metodami. Využívá se především u mikrobů, které nelze snadno diagnostikovat jinými metodami. Příliš se nehodí u mikrobů, které se běžně vyskytují v prostředí, takže by amplifikovaná DNA kontaminanty mohla vést k falešně pozitivním výsledkům.

2.3 Metody nepřímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

2.3.1 Základní pojmy

Poznámka: Kromě metod nepřímého průkazu v tomto textu naleznete z praktických důvodů i jednu z přímých metod - průkaz antigenu, respektive antigenní analýzu.

Tyto takzvané **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:

2.3.1.1 Průkaz antigenu pomocí protilátky

Použije se laboratorní protilátka (ze séra pokusného zvířete) a smíchá se

- buďto **se vzorkem pacienta**, ve kterém hledáme antigen – jde o **přímý průkaz antigenu**
- nebo **s kmenem**, vypěstovaným z pacientova vzorku – jde o **identifikaci, antigenní analýzu**

2.3.1.2 Průkaz protilátky pomocí antigenu

Použije se laboratorní antigen a smíchá se s pacientovým sérem

2.3.1.3 Ve všech případech platí, že:

- pokud vznikl komplex antigen-protilátka, je reakce pozitivní
- pokud komplex nevznikl, je reakce negativní (něco v ní chybí; to, co dodala laboratoř, určitě nechybí, chybí tedy to, co „měl dodat pacientův vzorek“)

2.3.2 Přehled sérologických metod

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

2.3.3 Nespecifické antigeny a heterofilní protilátky.

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: používají se např. červené krvinky všelijakých zvířat při průkazu infekční mononukleózy (Paul-Bunnellova reakce). Hovoří se pak o **nespecifickém antigenu**.

Někdy se také prokazují protilátky, které nejsou namířeny přímo proti mikrobu, ale proti nějaké molekule, která se uvolňuje z tkání změněných infekcí. Takovou látkou může být například kardiolipin - extrakt z hovězích srdcí při průkazu syfilis. Protilátky, které se s takovým nemikrobiálním antigenem spojují, se označují jako **heterofilní protilátky**.

V obou jmenovaných případech se tedy dvojice antigen – protilátka neshoduje s „normální“ dvojicí (mikrobiální antigen – protilátka proti mikrobiálnímu antigenu), i když z různých důvodů.

2.3.4 Jak zjistit u nepřímého průkazu, jestli se jedná o probíhající infekci, nebo o infekci, které proběhla dříve?

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 mikroblem setkal.** Přesto je možné aspoň s určitou pravděpodobností říci, jestli se o čerstvou 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 ovšem 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 neředitelné či málo ředitelné 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.

Zjišťujeme, k jaké třídě patří nalezené protilátky - to ovšem umožňují pouze reakce se značenými složkami. Převaha třídy IgM nad třídou IgG svědčí pro akutní infekci

Zjišťujeme tzv. aviditu, to je síla vazby protilátky na antigen. Čerstvé protilátky (u akutní infekce) bývají nízkavidní, „ještě se neumějí vázat na antigen příliš silně“. Tato metoda je poměrně nová a zatím se příliš nepoužívá.

Poznámka: Mlčky jsme předpokládali infekci, která akutně proběhne, a pak už jen zanechá trvalou „imunologickou paměť“. Některé infekce však přecházejí do chronicity, nebo se stávají infekcemi skrytými (latentními) a mohou se probouzet k životu. Zpravidla platí, že „opětné probuzení infekce“ má podobnou protilátkovou odpověď jako primární akutní infekce.

2.3.5 Precipitace a aglutinace

2.3.5.1 Princip precipitace a aglutinace

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, tedy skutečně jednotlivé antigenní determinanty), kdežto u **aglutinace** je *antigen povahy částicové - korpuskulární* (jako antigen vystupují větší částičky, například celé bakterie – jde tedy o antigenní determinanty vázané na povrch větší částice).

2.3.5.2 Aglutinace na nosičích

je 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 nebo *červené krvinky* - pak se jedná o hemaglutinaci (např. TPHA na syfilis).

2.3.6 Komplementfixační reakce (KFR)

je mnohem složitější než precipitace a aglutinace. Používá se při ní komplement, což je **přirozená složka humorální nespecifické, ale vlastně i specifické imunitní reakci**. 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** (teplem při 56 °C/ 30 min), **a do reakce se přidává komplement morčecí**.

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**.

Nyní přidáme do reakce tzv. *indikátorový systém*. Je to soustava známého antigenu (*beraní erytrocyty*) a známé protilátky (takzvaný *amboceptor - králíčí 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 všechen 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.

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.

2.3.7 Neutralizační reakce.

2.3.7.1 Princip neutralizační reakce

V případě **virů**, které jsou malé, protilátka kromě různých dalších mechanismů účinku působí i přímo: virus má zálsk na nějakou buňku či krvinku, které by rád provedl nějakou neplech (u krvinky např. hemolýzu nebo hemaglutinaci), ale protilátka mu v tom zabrání. **Bakterie** jsou příliš

velké na to, aby je mohla protilátka přímo inaktivovat. Co však protilátka nezmůže 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. Výjimkou může být např. neutralizace pohyblivosti bakterie (u jedné ze starších diagnostických reakcí u syfilis).

Antigenem v neutralizační reakci je tedy zpravidla **virus** nebo **bakteriální toxin**.

2.3.7.2 Některé příklady neutralizací

ASLO - antistreptolysin 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. Antistreptolysin O neutralizuje lýzu červených krvinek, kterou by normálně provedl streptolysin 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 a **virusneutralizační test** se používají ve virologii, i když jejich význam klesá s rozvojem jiných metod.

2.3.8 Reakce se značenými složkami

2.3.8.1 Princip reakcí se značenými složkami

Principem těchto reakcí je nepřerušeny 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, nejsou pevně svázány 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". Jako „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 **radioimmunoassay** či **radioimmunoesej**, 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.

2.3.8.2 Imunobloty

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 dopřít 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.

2.3.9 Automatizace u serologických metod.

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 nebývalé 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

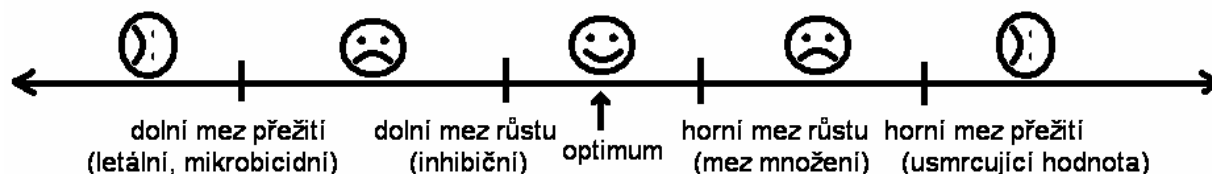
Ti co máme rodiny to celkem dobře chápem

S Kryštofkem je stejná práce jak má žena s chlapem **Refrén**

Téma 3 Desinfekce a sterilizace

3.1 Mikroby a prostředí, chování mikrobů při změnách jednotlivých faktorů v prostředí

3.1.1 Chování mikrobů při změnách fyzikálních a chemických faktorů



3.1.1.1 Mikroby a vnější prostředí

Baktérie (a podobně i ostatní mikroby) jsou velmi citlivé na změny vnějšího prostředí. Na ose, znázorňující kvantitu nějakého faktoru (třeba pH či teplotu), můžeme určitou hodnotu definovat jako **optimální**. To je hodnota, při níž se baktériím daří nejlépe. Když se hodnota zvyšuje nebo snižuje, narazíme nejprve na **inhibiční** mez, kdy je inhibován (zastaven) růst baktérií, 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. Samozřejmě, ne vždy lze definovat všechny meze – například dolní baktericidní mez u teploty prakticky nelze stanovit, velmi nízké teploty mikroby spíše konzervují.

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 mikrobicidní (u baktérií baktericidní) koncentrace**. Zde již vysloveně mají význam pouze horní meze.

3.1.1.2 Kombinace faktorů

Faktory se navzájem kombinují. Působíme-li dvěma faktory zároveň, zpravidla stačí k usmrcení baktérií nižší hodnota každého z nich než kdybychom působili samostatně.

Rozhodují i takové věci, jako je vlhkost vzduchu, přítomnost či absence nucené cirkulace vzduchu (v termostatu) a podobně.

Přínejmenším se vždycky všechny faktory kombinují s časem. Proto vyšší teploty ničí baktérie za kratší dobu, než teploty nižší.

3.1.1.3 Lékařsky významné mikroby a vnější prostředí

Lékařsky významné baktérie jsou obvykle nastaveny na podmínky, jaké mohou naleznout v lidském (nebo zvířecím) organismu: 37 °C (ptačí patogeny přes 40 °C, což je normální tělesná teplota většiny ptáků), 0,9 % NaCl apod. Baktérie s optimem kolem 37 °C se nazývají **mezofilní**, ty, které mají optimum vyšší, **termofilní**, pokud nižší, jsou **psychofilní**.

3.1.2 Praktický význam mezí růstu a přežití

3.1.2.1 Mikrobicidní (baktericidní) meze

Jsou významné pro boj s mikroby (sterilizace, desinfekce) – hodnoty působících faktorů musí být nastaveny tak, aby byly baktérie (nebo jiné mikroby) usmrceny.

3.1.2.2 Inhibiční meze a optimální hodnoty

Jsou důležité pro pěstování (kultivaci) baktérií. Je důležité vědět, že různé baktérie se liší (často velmi podstatně) ve svých nárocích na teplotu, vlhkost, koncentrace solí apod. Jednak je při kultivaci konkrétní baktérie důležité vytvořit jí vhodné podmínky, jednak lze rozdílů mezi druhy a rody baktérií použít také při jejich určování (roste na půdě s vysokou koncentrací soli? je to

stafylokok; neroste tam? není to stafylokok). Inhibiční mez u antimikrobiálních látek (minimální inhibiční koncentrace) je důležitá pro antimikrobiální léčbu.

3.2 Zásady praktického použití dekontaminačních metod

3.2.1 Dekontaminační metody a jejich použití

Dekontaminační metody jsou fyzikální a chemické postupy určené především k likvidaci zdraví ohrožujících organismů - mikrobů (sterilizace, vyšší stupeň desinfekce, desinfekce), hmyzu (desinsekce) a hlodavců (deratizace). Poslední dvě jsou někdy vyčleňovány jako tzv. **asanační metody**. Některými metodami se ovšem zlikvidují všechny (mikro)organismy. Při použití všech těchto metod je důležité dodržení několika zásad. Je nutno především:

1. Vybrat **vhodnou sterilizační/desinfekční metodu nebo prostředek**. Pojem "vhodný" znamená:
 - 1.1 musí bezpečně ničit ty organismy, které připadají v daném prostředí v úvahu
 - 1.2 nesmí ničit desinfikovaný či sterilizovaný materiál (povrch, pokožku...)
 - 1.3 musí být prakticky použitelný (z ekonomických hledisek, provozních apod.)
2. Použít **dostatečnou intenzitu faktorů** - dostatečnou teplotu, intenzitu záření, dostatečnou koncentraci přípravku apod.
3. Příslušný **faktor musí působit dostatečně dlouho** (často se nedodrhuje - sestra potře 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. K tomuto účelu jsou průběžně aktualizovány příručky, informace (byť někdy subjektivně zkrácené) poskytnou i výrobci sterilizačních a desinfekčních zařízení a potřeb. Dobré je také mít k dispozici platnou vyhlášku. Je potřeba zjistit, zda se metoda hodí pro účel, pro který ji chceme použít, jaké se užívají hodnoty působícího faktoru (teploty, koncentrace) a jaký čas je předepsán pro jeho působení (u desinfekce je někdy místo přesného časového údaje udáno „do zaschnutí“ – to ovšem znamená, že prostředek je skutečně nutno nechat zaschnout!). U desinfekce je velice důležitý údaj o spektru účinku – např. A = bakterie a kvasinky, B = bakteriální spory, C = viry apod. U sterilizace není údaj nutný, protože z principu sterilizace musí být vždy ničeno všechno.

3.2.2 Definice jednotlivých pojmů

3.2.2.1 Sterilizace

Je to postup (obvykle fyzikální), kterým jsou **zničeny všechny mikroby** (včetně virů, hub a bakteriálních spor – o sporách však není nutno se v definici zvlášť zmiňovat).

3.2.2.2 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.

3.2.2.3 Desinfekce

Je to chemický nebo (méně často) 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.

3.2.2.4 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.

3.2.2.5 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*. Bakterie jsou podrobeny normálnímu sterilizačnímu cyklu – nesmějí přežít. Přitom jde o velmi odolné sporulující bakterie, kterým stačí už malé snížení teploty či zkrácení doby sterilizace, aby přežily.

3.2.2.6 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".

3.2.2.7 Asepsy a antisepsy

jsou pojmy, které souvisejí s pojmy jako desinfekce, sterilizace apod., ale nesou v sobě jiný úhel 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.

Asepsy 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

Antisepsy 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.

3.3 Přehled nejdůležitějších dekontaminačních metod

3.3.1 Metody sterilizace

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. Teploty kolem 115 – 134 °C.

Sterilizace **horkou vodou pod tlakem** - pouze u chirurgických nástrojů k okamžitému použití. Málo se používá také sterilizace **horkým olejem**.

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.

Sterilizace **ohněm** se používá prakticky jen u mikrobiologických klíčků, protože většinu materiálů silně poškozuje. Spalování se hodí u odpadů.

Sterilizace **gama zářením**: používá se pouze při průmyslové výrobě, např. rukavic na jedno použití.

Chemická sterilizace parami formaldehydu nebo ethylenoxidem (musí být přesně dodržen postup). Používá se tam, kde nelze použít fyzikální metody.

Paskalizace je sterilizace tlakem v potravinářství

Ostatní metody: frakcionovaná sterilizace, filtrace roztoků aj. jsou speciální, používají se výjimečně

3.3.2 Vyšší stupeň desinfekce

používá **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.

3.3.3 Desinfekce

3.3.3.1 Fyzikální metody

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!!!

Jiné fyzikální metody - filtrace, žhání, slunění, UV záření (pracovní plochy v laboratoři, operační sál, kde se právě nepracuje) apod.

3.3.3.2 Desinfekční prostředky

3.3.3.2.1 Oxidační činidla

Výborné jsou **peroxydy**, zvláště *kyselina peroctová* (CH_3COOOH , 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. *Peroxid vodíku* (H_2O_2) - podobný, méně agresivní, také ale méně účinný.

Dobré jsou i **halogenové preparáty**. Z *chlorových* je to *chlornan sodný* (NaOCl), u nás Savo s všestranným použitím. Také chlornany jsou bělidlem. *Chlornan vápenatý* (Ca(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.

Chloramin je prášek (Chloramin B; Chloraminy BM a BS jsou s přísadami).

Jodovou tinkturou 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.

Manganistan draselný se již neužívá.

3.3.3.2.2 Alkoholy, fenoly a aldehydy

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.

Kresol (Iysol) je účinný, pro zápach a agresivitu se již téměř neužívá.

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.

3.3.3.2.3 Kvarterní amonné soli a tenzidy

Orthosan BF 12 k desinfekci např. povrchů - pozor, některé jiné Orthosany nejsou desinfekční prostředky, např. Orthosan BF 40 je na vši!

Ajatin - běžný pro desinfekci pokožky. Není agresivní a nealergizuje. Jeho účinnost nedosahuje parametrů oxidačních činidel.

Septonex se užívá na kůži, nejen jako desinficiens, ale také jako antiseptikum. Při dlouhodobém používání je ale pravděpodobně karcinogenní.

3.3.3.2.4 Anorganické kyseliny a louhy

Hrubá df. v zemědělství a průmyslu

3.3.3.2.5 Těžké kovy

Používají se zřídka, např. k ochraně budov před plísněmi - Lastanox

3.3.3.2.6 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.

Téma 4 Antimikrobiální látky

4.0 Úvod

Antimikrobiální látky jsou látky určené k boji s mikroby uvnitř organismu. Na rozdíl od desinfekčních přípravků jsou to látky specificky působící na určité struktury mikrobiální buňky. Antimikrobiální látky by měly být účinné proti mikrobům a zároveň pokud možno neškodné pro člověka. Není náhodou, že k nejoblíbenějším antibiotikům patří látky útočící na bakteriální buněčnou stěnu – tedy strukturu, kterou lidské buňky vůbec nemají, a tudíž jsou pro lidské buňky tato antibiotika prakticky neškodná.

4.0.1 Přehled antimikrobiálních látek

Antibiotika - proti bakteriím, produkty bakterií nebo hub

Antibakteriální chemoterapeutika - proti bakteriím, syntetická (dnes se rozdíl mezi touto a předchozí skupinou postupně smazává)

Antituberkulóza - proti bacilům tuberkulózy (ty se hodně liší od jiných bakterií)

Antivirotika - proti virům

Antimykotika - proti houbám

Antiparazitární látky - proti parazitům

Antiseptika - k lokální léčbě různých infekcí

4.0.2 Rozdělení antimikrobiálních látek z hlediska účinku

Látky primárně mikrobicidní (u bakterií *baktericidní*) – při běžně používaných koncentracích mikroby zabíjejí. Používají se i u těžkých stavů

Látky primárně mikrobistatické (u bakterií *bakteriostatické*) – při běžně používaných koncentracích inhibují růst, zbylé mikroby pak postupně hynou

4.1 Peniciliny, cefalosporiny, glykopeptidy a chinolony (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)

4.1.1 Betalaktamy I. – Peniciliny

působí na buněčnou stěnu bakterií, jsou baktericidní (bakterie zabíjejí), dobře se kombinují s aminoglykosidy, **nesmějí se kombinovat s makrolidy, tetracykliny, chloramfenikolem a linkosamidy** (navzájem snižují svůj účinek). Nejsou téměř toxické, ale mohou vyvolávat alergie. Toto vše platí i pro cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy. Vše jsou to totiž tzv. betalaktamová antibiotika (mají ve své chemické struktuře tzv. betalaktamový kruh)

4.1.1.1 Klasické peniciliny

penicilin – účinný například na angíny, existuje v injekční (G-penicilin) a perorální (V-penicilin) formě, a také jako depotní preparáty

4.1.1.2 Protistafylokokové peniciliny

oxacilin – je určen pouze pro stafylokoky

4.1.1.3 Širokospektré peniciliny

Na rozdíl od předchozích působí i na gramnegativní tyčinky. Nejstarší z nich je **ampicilin**. Podobný je také **amoxicilin** (AMOCLEN, DUOMOX).

4.1.1.4 Kombinace penicilinů s inhibitorem betalaktamáz

Význam je vysvětlen dále. Je to např. kyselina klavulanová v kombinaci s amoxicilinem (AUGMENTIN, AMOKSIKLAV).

4.1.1.5 Protipseudomonádové peniciliny

Jsou účinné i proti některým gramnegativním nefermentujícím tyčinkám. Je to například **tikarcilin**

4.1.2 Betalaktamy II. – Cefalosporiny

jsou účinné proti G+ kokům (hlavně první generace) a G- tyčinkám (hlavně třetí generace)

4.1.2.1 Cefalosporiny I. generace:

cefalotin (injekční), **cefalexin** (CEFACLEN - tabletový). Jsou určeny hlavně pro nekomplikované močové a dýchací infekce.

4.1.2.2 Cefalosporiny II. generace:

Nejznámější je **cefuroxim axetil** (ZINNAT, ZINACEF). Oproti první generaci větší účinek na gramnegativní tyčinky.

4.1.2.3 Cefalosporiny III. generace:

Patří sem například **ceftriaxon** (ROCEPHIN, LENDACIN), vhodný mj. i k léčbě meningitid, dále **cefoperazon** (CEFOBID) či **cefotaxim** (CLAFORAN).

4.1.2.4 Cefalosporiny III. generace s inhibitorem betalaktamáz:

cefoperazon se sulbaktamem, (působí obdobně jako kyselina klavulanová - SULPERAZON)

4.1.2.5 Cefalosporiny IV. generace:

Např. **cefepim** (MAXIPIME), jsou odolné i vůči některým typům betalaktamáz (viz dále)

4.1.2.6 Cefalosporiny Cefamyciny

Jsou příbuzné cefalosporinům, liší se v detailech. Nejznámější je **cefoxitin** (MEFOXIN), vyznačující se dobrým působením na anaeroby.

4.1.3 Betalaktamy III. – Monobaktamy a karbapenemy

Mají velice široké spektrum a používají se jako rezervní, když už nic nepomáhá.

4.1.3.1 Monobaktamy

Příkladem je **aztreonam**.

4.1.3.2 Karbapenemy

příkladem je **imipenem** (TIENAM), **meropenem** (MERONEM) či **ertapenem** (INVANZ). Jako jediné z betalaktamových antibiotik jsou účinné i na bakterie produkující širokospektré betalaktamázy (viz dále).

4.1.4 Glykopeptidy

Vankomycin a **teikoplanin** působí také hlavně na buněčnou stěnu. Jsou to rezervní antibiotika na G+ mikroby. Jsou značně toxické (ucho, ledviny, krev)

4.1.5 Chinolony

Působí na tvorbu bakteriální DNA. 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).

4.1.5.1 Chinolony I. generace

Kyselina oxolinová (DESUROL) se používala k léčbě močových infekcí

4.1.5.2 Chinolony II. generace

Příkladem je **norfloxacin** (NOLICIN, GYRABLOCK). Je účinnější, ale přesto se na jiné než močové infekce nedoporučuje.

4.1.5.3 Chinolony III. generace

Ciprofloxacin (CIPROBAY, CIPRINOL), **ofloxacin** (TARIVID, OFLOXIN) i **pefloxacin** (ABACTAL) jsou vhodné i k léčbě systémových infekcí

4.2 Aminoglykosidy, makrolidy, tetracykliny, linkosamidy a chloramfenikol (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)

Všechna zde zmíněná antibiotika mají společného jmenovatele, a to působení na bakteriální proteosyntézu. Působí však různými mechanismy a v různých fázích proteosyntézy. Proto jsou aminoglykosidy baktericidní, kdežto ostatní zde zmiňovaná antibiotika bakteriostatická.

4.2.1 Aminoglykosidy

poněkud ztratily na oblibě. 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.

4.2.2 Tetracykliny

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**

4.2.3 Chloramfenikol

je jedovatý pro krvetvorbu, ale má dobrý průnik do mozkomíšního moku. Stále se ještě používá jako rezervní lék pro výjimečné případy

4.2.4 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.

4.2.4.1 I. generace:

Léčebně se již téměř nepoužívají. Testu je se však citlivost s tím, že se dá zpravidla vztáhnout i na jiné makrolidy. Patří sem **erytromycin**.

4.2.4.2 II. generace:

clarithromycin (KLACID), **roxithromycin** (RULID), **azithromycin** (SUMAMED) jsou modernější preparáty. Azithromycin se někdy řadí to zvláštní skupiny tzv. **azalidů**.

4.2.5 Linkosamidy

jsou rezervní antibiotika. Používají se jen v nemocnici při infekcích kostí a měkkých tkání. Patří sem **linkomycin** (LINCOCIN) a **klindamycin** (DALACIN C)

4.2.6 Ostatní antibiotika a chemoterapeutika

Sulfonamidy mají omezené použití. Používá se hlavně **sulfametoxazol** kombinovaný s jiným chemoterapeutikem trimetoprimem jako **kotrimoxazol** (SEPTRIN, BIASEPTOL). Při léčbě ve stravě zákaz konzumace kyselin (citron) - nebezpečí krystalizace v ledvinách.

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.

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

4.2.7 Antituberkulotika

jsou např. **izoniazid** nebo **etambutol**. Vždy se používá kombinace tří nebo čtyř látek, dlouhodobá léčba

4.2.8 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.

4.2.9 Antivirotika

proti herpesvirům: např. **acyklovir** (ZOVIRAX, HERPESIN)

proti chřipce: např. **amantadin** či novější a účinnější **oseltamivir**

proti HIV: např. **zidovudin**, další jsou nyní ve vývoji - na vývoji nadějných preparátů se podílí mj. český vědec dr. Holý

4.2.10 Antiparazitární látky

proti prvokům: nitroimidazoly - např. **metronidazol** (AVRAZOR – jeho výhodou je účinnost i na některé bakterie, zejména anaeroby, používá se s výhodou v gynekologii u smíšených bakteriálně-trichomonádových infekcí) dále **chinin** a **chlorochin** (na malárii) a spousta dalších

proti plochým červům: např. **niklosamid**

proti oblé červům: např. **pyrvinium**

4.2.11 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!)

4.2.12 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
	Cefalosporiny			
	Nové b-laktamy			
	Vankomycin			
syntézu proteinů	Aminoglykosidy	bakteriostatické	vylučování převážně žlučí	značná - ušní, močová, popř. nervová
	Tetracykliny			
	Makrolidy			
	Linkosamidy			
	Chloramfenikol		vylučování převážně ledvinami	!!krvetvorba, tráv., nerv.
nukleové kyseliny	Chinolony	baktericidní		malá, tráv., CNS. !věk!
cytop. membránu	Polymyxiny			velká: nervy, moč. syst.
metabolismus	Sulfonamidy	bakteriostatické		ledviny, GIT a jiné

4.3 Primární a sekundární rezistence mikrobů, ESBL, MRSA, VRE a jejich význam. Antibiotická střediska

4.3.1 Primární a sekundární rezistence

4.3.1.1 Primární (konstituční) rezistence

je **společná vždy všem kmenům daného druhu**. Je zpravidla dána tím, že stavba mikroorganismu vylučuje, aby na něj dané antibiotikum působilo. Například betalaktamová antibiotika, působící na buněčnou stěnu, nelze použít k léčbě infekcí způsobených mykoplazmaty, protože ta žádnou

buněčnou stěnu nemají. Některá antibiotika účinkují jen na grampozitivní nebo naopak jen na gramnegativní bakterie apod.

4.3.1.2 Sekundární (získaná) rezistence

se **vyskytuje jen u některých kmenů**. Z toho také plyne, že není předvídatelná a musíme ji zjišťovat u každého kmene zvlášť. Sekundární rezistence je umožněna mutacemi na bakteriálním chromosomu nebo plasmidu. Za normálních okolností by se mutace neuplatnila. Pokud ale používáme určité antibiotikum, stane se „umění být necitlivá“ pro bakterii výhodnou a taková bakterie logicky vyhrává v soutěži s ostatními. Nadměrným a zejména nesprávným používáním antibiotik tedy zvýhodňujeme (selektujeme) rezistentní kmeny bakterií. Proto je tak důležité používat antibiotika s rozvahou.

4.3.2 Příklady mechanismů rezistence

Znehodnocení antibiotika ještě než vnikne do buňky (rozštěpení důležité části molekuly, navázání bočního řetězce, který mění antibiotikum v neúčinný metabolit, apod.)

Nevpuštění antibiotika do buňky, například změnou cytoplasmatické membrány

Změnou cílového místa pro působení antibiotika

4.3.3 Betalaktamázy a jejich inhibitory

Asi nejnámějším i nejvýznamnějším příkladem faktoru rezistence jsou různé typy **betalaktamáz** – jsou to enzymy, které produkují nejrůznější typy baktérií. Betalaktamázy štěpí betalaktamový kruh penicilinových, cefalosporinových a ostatních betalaktamových antibiotik – většinou ale jen některých z nich.

Pro překonání některých typů betalaktamáz se používají takzvané **inhibitory betalaktamázy**.

Inhibitor betalaktamázy je „falešné antibiotikum“ – málo účinná betalaktamová látka, která je však silně atraktivní pro betalaktamázy. Betalaktamáza se vysytí tím, že rozštěpí betalaktamový kruh inhibitoru, zatímco skutečné účinné antibiotikum zůstává nepoškozené a může působit.

Nejběžnějšími kombinacemi antibiotika + inhibitoru betalaktamázy jsou amoxicilin + kyselina klavulanová, ampicilin + sulbaktam, tikarcilin + kyselina klavulanová, cefoperazon + sulbaktam.

4.3.4 Některé významné typy polyrezistentních kmenů, způsobující často nemocniční infekce

4.3.4.1 MRSA – methicilin rezistentní stafylokoky.

Kvůli změně cytoplasmatické membrány nepouštějí tyto bakterie do svých buněk oxacilin (či methicilin, používaný v některých zemích tak jako oxacilin u nás). Oxacilin je přitom klasické protistafylokokové antibiotikum. Mnohé MRSA jsou rezistentní také na další antibiotika (makrolidy, linkosamidy) a pak už k léčbě zůstávají prakticky jen velmi drahé a toxické glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin). Ve světě se bohužel objevily i stafylokoky částečně nebo úplně rezistentní na glykopeptidy (VISA, VRSA).

4.3.4.2 VRE – vankomycin rezistentní enterokoky.

Kmeny enterokoků, které jsou necitlivé na glykopeptidy a zpravidla nejsou citlivé ani na většinu ostatních antibiotik. Léčba je obtížná či nemožná.

4.3.4.3 Producenti ESBL

Jde o gramnegativní bakterie (enterobakterie a gramnegativní nefermentující bakterie), které produkují takzvané širokospektré betalaktamázy. Ani účinek inhibitorů na ně není dostatečný. I v tomto případě zůstává jen velmi omezená škála účinných léčiv. Navíc tyto kmeny často v rámci nemocničních infekcí postihují oslabené jedince, kteří mnohá antibiotika nemohou dostávat vzhledem ke své základní chorobě.

Při prevenci výskytu (nejen) ESBL je třeba vyhýbat se jednak **induktorům** tvorby ESBL, což jsou antibiotika, která vyvolávají tvorbu betalaktamáz, jednak (a ještě více), **selektorům** kmenů produkujících ESBL. Selektory jsou zpravidla širokospektrá antibiotika (typicky cefalosporiny třetí

generace), která vyhubí všechny citlivé kmeny; zůstanou (a pomnoží se) pouze kmeny rezistentní

4.3.5 Antibiotická střediska a „antibiotická politika“

Antibiotická střediska jsou důležitou součástí každé větší nemocnice. Klinickým pracovníkům poskytují komplexní poradenství, jaké antibiotikum je v které situaci nejvhodnější. Zároveň mají antibiotická střediska pravomoc odmítat předepisování léků, které z různých důvodů vhodné nejsou. Nevhodným lékem je zejména:

- Lék, který **není účinný** na zjištěného nebo pravděpodobného původce nemoci
- Lék, který účinný je, avšak je **zbytečně širokospektrý**, přičemž existuje možnost jiného léku, který selektivně zasáhne pouze původce onemocnění
- Lék, který je znám jako **induktor či selektor tvorby faktorů rezistence** (například širokospektrých betalaktamáz), pokud existuje možnost podat jiný lék, který tyto vlastnosti nemá, nebo má slabší.

Antibiotika nejsou lentilky, nejsou to léky proti zánětu či proti horečce. Nesmějí se používat tam, kde pravděpodobně nejde o bakteriální infekci, jen tak „pro jistotu“ či „z rozpaků“.

Antibiotika se musí používat cíleně, pro konkrétní infekční diagnózu konkrétního pacienta. Nemí možné, aby si oddělení vytvářela zásoby antibiotik „pro strýčka příhodu“ a pak je podle nějakých náhodných algoritmů používala.

Výjimečným případem je tzv. **antibiotická profylaxe** – podání jedné, výjimečně více (ale ne více než tří) dávek antibiotika tak, aby se pokryla riziková situace při chirurgickém výkonu (např. výkon na střevě – střevní bakterie se mohou dostat do břišní dutiny). Několikadenní „profylaxe“ praktikovaná na některých chirurgických odděleních je zásadně nesprávným postupem, který vede ke zvyšování rezistencí bakterií; pacientům nepomáhá, ale naopak škodí.

Svou roli v antibiotické politice samozřejmě hraje i **cena antibiotik** – zájem zdravotních pojišťoven, aby nebyly podávány příliš drahé preparáty, je naštěstí vcelku ve shodě se zájmem racionální antibiotické terapie. Jestliže antibiotické středisko požaduje, aby nebyly podávány léky zbytečně širokospektré, a pojišťovna, aby nebyly podávány léky příliš drahé, jde zpravidla o tytéž preparáty.

4.4 Kvalitativní a kvantitativní testy citlivosti na antibakteriální látky, význam MIC

4.4.1 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 baktericidní 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. Naopak u **primárně bakteriostatických** antibiotik je MBC velmi vysoká, mnohem vyšší než MIC. Pro praxi tedy u těchto antibiotik používáme koncentrací, které jsou jen bakteriostatické. Nevadí to, protože se zbylými mikroby si poradí organismus pacienta. Nesmí ale jít o těžký stav, poruchu imunity apod. – tam je nutno vždy používat antibiotika primárně baktericidní.

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. Musíme tedy znát koncentraci antibiotika, které je při běžném dávkování dosaženo v krvi a ve tkáních (s určitou rezervou a zahrnutím individuálních rozdílů) – **breakpoint**. S ním porovnáváme zjištěnou hodnotu MIC. Pokud je breakpoint vyšší než MIC, plyne z toho, že breakpointová koncentrace 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.

Problémem také je, že mnohé bakterie žijí na sliznicích ve formě biofilmu. K rozbití biofilmu zpravidla nestačí MIC. Používají se pojmy **MBIC – minimální biofilm inhibující koncentrace** a **MBEC – minimální biofilm eradikující koncentrace**. V praxi se však MBIC a MBEC (alespoň zatím) nestanovují, vzhledem k extrémní pracnosti a náročnosti metod, kterými by se to dalo provádět.

4.4.2 Metody zjišťování citlivosti

Zjišťovat citlivost in vitro (= v laboratoři) je vhodné u většiny nálezů patogenních bakterií, pokud se dají kultivovat. Je sice třeba brát v úvahu, že laboratorní výsledky nemusí z různých důvodů stoprocentně souhlasit s výsledky u pacienta, ale přesto je testování in vitro zpravidla mnohem lepší, než nedělat nic.

Nejběžněji se používá difusní diskový test, který se snadno provádí, ale je pouze kvalitativní a nehodí se pro kmeny od závažných pacientů. U těch se používají kvantitativní testy – E-test anebo mikrodiluční test.

4.4.3 Difúzní diskový test

Na Müllerův-Hintonové 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.

4.4.4 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. Na rozdíl od předchozího testu se E-testem 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.

4.4.5 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 (MIC).

Pokud důlky bez zákalu (tj. s inhibicí) vyočkujeme 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.

4.4.6 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. Může se jednat o diagnostické proužky (chemický průkaz daného enzymu) nebo testy na jiném principu.

Téma 5 Respirační infekce

5.1 Etiologie a dg. nevirových infekcí HCD a ucha, způsoby odběru a interpretace nálezů

Respirační infekce patří zejména u dětí k **nejčastějším** infekcím. Často se přenášejí v kolektivech a občas se objeví v podobě epidemií, takže mají i značný ekonomický dopad. Tři čtvrtiny respiračních infekcí (a u dětí ještě více) jsou vyvolány **viry**, ale bakteriální jsou také časté, často jako superinfekce infekcí virových.

Příznaky se hodně liší podle toho, kde se infekce nachází.

5.1.1 Infekce nosu a nosohltanu

5.1.1.1 Charakteristika infekce nosu a nosohltanu

Rhinitis (záněť nosní dutiny) a **nasopharyngitis (záněť nosohltanu)** bývají součástí běžného nachlazení a projevují se především rýmou a bolestí v krku. Prvotním původcem bývají viry. Na virovou infekci záhy nasedá sekundární bakteriální infekce, což se projeví změnou vzhledu nosního sekretu z bezbarvého hlenovitého na nažloutlý hnisavý. Z bakterií se na akutní rhinitidě nejčastěji uplatňují *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pneumoniae*. Tyto mikroby, zejména zlatý stafylokok, se totiž mnohdy vyskytují i v nosní dutině nebo na nosní mandli zdravých osob.

5.1.1.2 Diagnostika infekcí nosu a nosohltanu

Bakteriologické vyšetření má význam hlavně u komplikací, protože nekomplikovanou hnisavou rýmu stačí léčit lokálně a v tom případě se původce a jeho citlivost obvykle nezjišťuje. Tampon je nutné zavést do obou průduchů a je třeba vystříhat se jeho dotyku s kůží.

V laboratoři se vzorek naočkuje zpravidla na dvě až tři pevné půdy a pátrá se po typických patogenech. Podobně je tomu i u ostatních typů výtěrů z dýchacích cest.

5.1.2 Infekce ústní části hltanu včetně krčních mandlí

5.1.2.1 Charakteristika infekcí hltanu a mandlí

U infekcí mandlí (*tonsilitid*) je důležité je vzhledem k možným pozdním následkům rozpoznat „klasickou angínu“ – akutní tonsilitidu vyvolanou *Streptococcus pyogenes*. Předběžně to lze odhadnout i podle klinického obrazu: pro streptokokovou angínu či tonsilofaryngitidu je charakteristická stejnoměrně tmavočervená a zduřelá sliznice tonzil s hnisavými „čepy“. Naopak jiné než streptokokové infekce mají zpravidla méně charakteristický obraz a je postižena více sliznice hltanu jako takového než mandlí.

Ukazuje se ale, že ani zkušený diagnostik nemusí rozeznat bakteriální infekci od virové. Proto se dnes doporučuje vždy provést kultivační vyšetření výtěru z krku.

5.1.2.2 Diagnostika infekcí hltanu a mandlí

Diagnostika pomůže odlišit virové tonsilitidy (bakteriologické vyšetření je v takovém případě negativní) a určit další bakteriální původce: hemolytické streptokoky jiné než *Streptococcus pyogenes*, dále *Arcanobacterium haemolyticum*, pneumokoky a další. Často jde o bakterie, které jsou v krku normálně a škodí při přemnožení (hemofily, meningokoky).

Klasickou metodou je **kultivace** výtěru z krku, což představuje stěr z tonsil a zadní stěny hltanu (tampon zaslaný v Amiesově půdě). Klinik po opatrném stlačení jazyka dřevěnou lopatkou vyzve pacienta k vyslovení dlouhého „á“, čímž se zvedne čípek a tím se sníží dráždění na zvracení. Tamponem pak odebírající rychle setře povrch tonsil a zadní klenbu faryngu. Je třeba vyhýbat se přitom patrovým obloukům a sliznici tváří. Zpravidla se pak vzorek kultivuje na krevním agaru, v případě nemocničních kmenů i na Endově půdě.

Objevují se také **rychlé testy** k detekci *S. pyogenes* na bázi průkazu antigenu. Vyšetřuje se opět výtěr z krku a v pozitivním případě se obvykle na vhodné podložce objeví barevný symbol. Tyto testy jsou hotovy ještě během přítomnosti pacienta v ambulanci. Při negativním výsledku by se pro nižší citlivost těchto testů měl odebrat nový výtěr na běžnou kultivaci.

Interpretace jiného nálezu než je nález *S. pyogenes* musí brát v úvahu nejen vlastní nález, ale i kvantitativní poměr mezi jednotlivými mikroby, a především klinický stav pacienta. Jde totiž vesměs o bakterie, které mohou být jak součástí normální mikroflóry, tak i patogeny.

5.1.2.3 Diagnostika infekcí hltanu a mandlí

Lékem volby u angín a faryngitid vyvolaných *S. pyogenes* zůstává jednoznačně **penicilin**. Pouze u prokázaných alergií se podávají makrolidy. U jiných původců se postupuje podle citlivosti.

5.1.3 Infekce ucha a přínosných dutin

5.1.3.1 Charakteristika infekcí ucha a přínosných dutin

Bakteriální zánět středního ucha (*otitis media*) a paranazálních dutin (*sinusitis*) bývá sekundární (po virové infekci). Na obou dvou stavech se podílejí se především *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*, méně často *Branhamella (Moraxella) catarrhalis* a další. Komplikací zánětu středního ucha je zánět výběžku bradavčitého (*mastoiditis*) a především hnisavý zánět mozkových plén (*meningitis purulenta*).

U **chronické** otitidy se uplatňuje kolonizace gramnegativními nefermentujícími bakteriemi či enterobakteriemi.

5.1.3.2 Diagnostika infekcí ucha a přínosných dutin

Pro laboratorní diagnostiku otitid a sinusitid je nejdůležitější **kultivace** bakteriálního původce.

Odebírá se sekret ze středouší po paracentéze nebo spontánní perforaci, u externích a chronických otitid výtěr z zvukovodu. U sinusitid má smysl vyšetřovat jen centrifugovaný výplach z dutiny provedený sterilním fyziologickým roztokem (nikoli zředěným persterilem, peroxidem či borovou vodou!). U chronické sinusitidy je nutná i anaerobní kultivace vzorku. Z nálezu ve výtěru z nosu nebo nosohltanu nelze usuzovat na etiologii vyšetřované sinusitidy.

5.1.3.3 Léčba infekcí ucha a přínosných dutin

V terapii akutních hnisavých otitid a sinusitid se používají aminopeniciliny, lépe s inhibitorem beta-laktamázy, cefalosporiny aj.

5.1.3.4 Záněty zevního zvukovodu

Zánět zevního zvukovodu (*otitis externa*) bývá způsoben *Staphylococcus aureus*.

5.1.4 Infekce příklopky hrtanové

Haemophilus influenzae typ b vyvolává izolovanou **epiglottitidu**. Otok epiglottis pak může ohrozit i život postiženého dítěte. Bakteriologickému **vyšetření** se vyhýbáme, pokus o odběr by mohl vyvolat laryngospasmus a stejně vzhledem k závažnosti a rychlému průběhu stavu se na výsledek bakteriologie nečeká. Je však vhodné odebrat krev na hemokulturu. U dítěte se zajistí průchodnost dýchacích cest a nasadí kortikoidy a **antibiotikum** účinné proti hemofilům (amoxicilin s klavulanátem, cefuroxim aj.).

5.1.5 Infekce laryngu a trachey

Z bakterií v této oblasti respiračního traktu vyvolává primární infekce hlavně *Chlamydia pneumoniae*. Rovněž původce záškrtu, *Corynebacterium diphtheriae*, může vyvolat *pseudomembranózní laryngotracheitidu* (tzv. *croup*). Ostatní bakterie, zejména zlaté stafylokoky a hemofily, většinou nasedají na sliznici poškozenou viry.

Bakteriologické vyšetření laryngitid je nezbytné při podezření na záškrť. Odebírají se stěry z pablán a kultivují na speciálních půdách.

V **terapii** záškrtu antibiotika (penicilin) nestačí, život zachraňuje pasivní imunizace sérem proti difterickému toxinu.

5.2 Etiologie a dg. neviróvých infekcí DCD, způsoby odběru a interpretace nálezů

5.2.1 Infekce bronchů

5.2.1.1 Charakteristika infekcí bronchů

Většina bronchitid, zvláště u dětí, je virového původu. Z bakterií se podílejí jako sekundární patogeny uplatňují v bronších pneumokoky, hemofily, branhamely a zlaté stafylokoky, jako primární agens pak zejména *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* a případně *Bordetella pertussis*. Při cystické fibróze vypěstujeme ze sputa kmeny *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Burkholderia cepacia*.

5.2.1.2 Diagnostika infekcí bronchů

Běžná bakteriologická diagnostika spočívá v odběru sputa, který je probrán dále. U **syndromu dávivého kašle** (*pertusse*) je třeba se zaměřit na průkaz *B. pertussis*, resp. *B. parapertussis*, ale případně i na průkaz adenovirů. Posílají se laryngeální výtěry (používá se odběrová souprava opět s Amiesovou půdou, ale s drátkem místo tyčinky). Syndrom dávivého kašle lze diagnostikovat i serologicky.

5.2.1.3 Léčba infekcí bronchů

V empirické léčbě akutních hnisavých bronchitid se používá např. amoxicilin + klavulanát nebo cefuroxim. V léčbě *pertusse* a infekcí působených mykoplasmaty a chlamydiemi se uplatňují makrolidy, popř. doxycyklin.

5.2.2 Infekce plic

5.2.2.1 Charakteristika infekcí plic

Akutní zánět plic získaný „v terénu“ (tedy ne jako nemocniční infekce) vyvolávají nejčastěji *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* případně *Branhamella catarrhalis*. U novorozenců hrozí *Streptococcus agalactiae*.

Na nemocničních infekcích se podílejí enterobakterie (*Klebsiella pneumoniae*) a gramnegativní nefermentující tyčinky. U výrazně oslabených jedinců (oslabená imunita, AIDS) také legionely, kvasinky, plísně apod.

Atypické pneumonie na rozdíl od klasického zánětu plic nenapadají bronchy a plicní sklípky, ale spíše mezibuněčný prostor plicních buněk. Kromě virů je působí nejčastěji *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydia pneumoniae*.

Pokud nemocný uvádí v anamnéze kontakt se **zvířaty**, je při atypické pneumonii nejčastějším agens původce ornitózy (*Chlamydia psittaci*), vzácněji původce Q-horečky (*Coxiella burnetii*). Pod obrazem **pneumonie subakutní nebo chronické** probíhá plicní tuberkulóza (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*).

Důležité jsou také **pneumonie aspirační**, například při vdechnutí zvratků, které přecházejí v plicní abscesy. Jejich příčinou je nejčastěji smíšená anaerobní flóra.

5.2.2.2 Diagnostika infekcí plic

Při podezření na zánět plic se běžně vyšetřuje **sputum**, které by mělo obsahovat hnisavé vločky (nemá smysl posílat sliny). Mikrobiologové nevhodný vzorek odhalí – obsahuje málo leukocytů. V takovém případě mají právo odmítnout provést vyšetření a požadovat nový odběr. Ideální je odběr ranního sputa před snídaní. Pacient vyplivne sputum do širokohrdlé zkumavky (tzv. sputovky) a takto odebraný materiál by měl být co nejrychleji dopraven do laboratoře, aby nedošlo k nežádoucímu pomnožení rychle rostoucích mikroorganismů (zejména kvasinek). Sputum se obarví dle Grama a mikroskopuje (kromě množství bakterií je důležité i množství epitelii a leukocytů). Kromě toho se kultivuje na krevním agaru a Endově půdě.

V případě požadavku vyšetření **na tuberkulózu** se také posílá sputum, je ale potřeba ho poslat zvlášť a označit, protože při běžné kultivaci se původce TBC nezachytí. Sputa zasláná na

vyšetření TBC se vyšetřují buďto metodou PCR, nebo se po tzv. moření (odstranění ostatních bakterií) provede kultivace na speciálních půdách. Výsledky se odečítají po 3, 6 a 9 týdnech. Kultivaci v poslední době urychlují kultivační automaty.

Výtěr z krku místo sputa nemá téměř smysl.

Kromě sputa může být u pneumonií užitečné poslat **krev na hemokulturu**, příp. *bronchoalveolární laváž*, která je získána pomocí aplikace 30 - 50 ml fyziologického roztoku fibroskopem zavedeným do dolních cest dýchacích. Ve vybraných případech lze provést i **biopsii plicní tkáně**, a to buď transbronchiálně (v průběhu bronchoskopie) nebo peroperačně přímo z plíce. Ve speciálních případech (mykoplasmata, chlamydie, coxielly) je potřeba vyšetřit krev na serologický průkaz původců respiračních nákaz, protože tyto původci při běžné kultivaci nevyrostou.

5.2.2.3 Léčba infekcí plic

Liší se podle typu a etiologie. Zcela obecně platí, že akutní bronchopneumonie lze empiricky léčit aminopeniciliny, příp. i potencovanými klavulanátem nebo sulbaktamem, dále pak cefalosporiny odolnými vůči beta-laktamázám nebo makrolidy novější generace.

U prokázané infekce pneumokokem je lékem volby klasický penicilin (a samozřejmě totéž platí i v případě jiných bakterií na penicilin citlivých)

U atypických pneumonií jsou lékem volby tetracykliny, příp. makrolidy II. generace nebo fluorochinolony. Léčba atypických pneumonií musí být dostatečně dlouhá, 14 - 21 dní, jinak hrozí nebezpečí recidivy.

5.3 Respirační infekce virové etiologie, odběr a transport materiálu, interpretace výsledků

5.3.1 Virové infekce HCD

Rhinitis a nasopharyngitis bývají součástí běžného nachlazení (common cold) a projevují se především rýmou (coryza) a bolestí v krku. Primárním etiologickým agens bývají rhinoviry (ve více než 50 % případů), koronaviry a ostatní respirační viry kromě virů chřipky, pro niž rýma není typická. Na virovou infekci záhy nasedá sekundární infekce bakteriální, což se projeví změnou vzhledu nosního sekretu z bezbarvého hlenovitého na nažloutlý hnisavý.

Také většina akutních **tonsilitid a faryngitid** je virového původu, původci jsou stejní (často jde o adenoviry). Ani u tonsilitid a faryngitid není virologická diagnostika běžně potřebná.

Akutní zánět středního ucha a paranasálních dutin obvykle opět zahajují respirační viry. Hnisavá bakteriální infekce bývá až sekundární.

Při zánětu hrtanu jsou postiženy hlasivky, což se projevuje chrapotem. Nejdůležitějšími původci **laryngitidy a tracheitidy** jsou viry parainfluenzy, viry chřipky a RS-virus. Rhinovirům prostředí hrtanu a průdušnice s teplotou 37 °C příliš nevyhovuje (jsou adaptovány na teplotu nosní sliznice, což je 33 až 35 °C).

5.3.2 Virové infekce bronchů

Většina **bronchitid**, zvláště u dětí, je virového původu. Průdušky postihují hlavně viry chřipky, ale i adenoviry, parainfluenzové viry a RS-virus. Často působí akutní exacerbace chronické bronchitidy. Z bakterií se jako sekundární patogeny uplatňují v bronších mj. pneumokoky, hemofily, branhamely a zlaté stafylokoky, jako primární agens pak zejména *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* a *Bordetella pertussis*. Při cystické fibróze vypěstujeme ze sputa mukózní kmeny *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Burkholderia cepacia*.

5.3.3 Virové infekce bronchiolů

Bronchiolitidy u kojenců vyvolává RS-virus. Infekce se diagnostikuje virologicky, a to na základě průkazu RS-virových antigenů v respiračních sekretech. Kultivace je obtížná a serologie málo spolehlivá. Antibiotika neúčinkují, zkoušejí se virostatika (ribavirin).

5.3.4 Virové infekce plic

Virové infekce plic způsobuje především virus chřipky A a B a u dětí ještě další respirační viry, zejména RS-virus.

5.3.5 Diagnostika respiračních viróz

5.3.5.1 Indikace vyšetření respiračních viróz

Na rozdíl od bakteriálních infekcí, kdy poznání původce je nezbytné pro správnou antibiotickou léčbu, není u viróz diagnostika většinou vůbec nutná. Léčba je symptomatická a k tomu, aby byla úspěšná, není nutno znát konkrétního virového původce. Diagnostika se provádí u komplikací, anebo z epidemiologických důvodů. Například u chřipky je potřeba znát kmeny kolující v populaci, aby mohla být připravena správná vakcína.

5.3.5.2 Vlastní diagnostika respiračních viróz

Zatímco u běžných bakterií, kdy stačí zaslat vzorek „na bakteriologické vyšetření“ a původce se ozřejmí kultivací, u virů (ale i u kultivačně náročných bakterií, jako jsou mykoplasmata, chlamydie apod.) je nutno provést cílené vyšetření předpokládaného původce, ať už vyšetřujeme antigen či protilátku.

Nejběžnější je **nepřímý serologický průkaz**, kdy se k vyšetření zašle srážlivá krev. Laboratoře zpravidla nabízejí vyšetření „průkazu respiračních virů“, což zahrnuje vyšetření protilátek proti nejběžnějším virovým agens a jako bonus i proti bakteriím *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydia pneumoniae*.

Pro **izolaci viru** je nejvhodnější odebrat výplach z nosohltanu za pomoci média pro tkáňové kultury, které klinik na požádání obdrží v laboratoři. Zejména u menších dětí je ovšem tento způsob odběru dosti problematický, proto zde často nezbývá jiná možnost, než se spokojit s nasofaryngeálním výtěrem, ovšem ne zaslaným v bakteriologické transportní půdě, ale ve virologickém médiu. Při odběru výtěru z krku na virologické vyšetření je důležité *vyhýbat se tonsilám a výtěr důsledně odebírat ze zadní stěny faryngu*. Ještě vhodnější je pokusit se odsát respirační sekret vhodnou kanylou nasazenou na injekční stříkačku.

Jiné metody (přímý průkaz antigenu, PCR aj.) zpravidla mají svá zvláštní pravidla odběru, které je potřeba telefonicky ověřit v laboratoři.

Pro interpretaci výsledku je nutno vědět, zda byl proveden přímý či nepřímý průkaz. V případě nepřímého průkazu je důležité znát průběh titru v čase či příslušnost protilátek k třídám IgG a IgM – blíže viz kapitola o vyšetřovacích metodách.

Téma 6 Infekce trávicího traktu

6.1 Hlavní původci průjmů (a jiných infekcí GIT)

6.1.1 Význam infekcí gastrointestinálního traktu

- Celosvětově patří k nejběžnějším infekcím
- I když některých ubývá, jiných naopak přibývá (kampylobaktery)
- Mohou probíhat epidemicky (zejména při kontaminované potravě)
- V souvislosti s cestováním je nutno myslet i na původce z jiných zeměpisných šířek
- Postihují všechny věkové kategorie, závažnější u dětí, starých a oslabených lidí

Poznámka: Gastrointestinální trakt je také častou branou vstupu infekcí lokalizovaných jinde nebo systémových (např. virová hepatitida A či dětská obrna)

6.1.2 Nejčastější příznaky infekcí gastrointestinálního traktu

- **Průjem** – akutní, chronický, s přítomností krve, hlenů, tenesmy (bolestivé nutkání)
- **Nechutenství**, dyspepsie různého stupně
- **Zvracení** – s příměsí krve či bez něj, s hleny apod.
- **Bolesti břicha** – lokalizované do různých míst

Všechny tyto příznaky však mohou mít i neinfekční příčiny!

6.1.3 Infekce počátečních částí trávicího traktu

6.1.3.1 Charakteristika infekcí dutiny ústní

V **dutině ústní** jde hlavně o zubní kaz či onemocnění dásní. Vždy v tomto případě jde o komplexní narušení ekosystému, složeného z ústních streptokoků, neisserií a různých dalších mikrobů).

V případě oslabených osob připadá v úvahu infekce gramnegativními bakteriemi nebo kvasinkami – nejčastěji jde o druh *Candida albicans*. Kvasinkové infekci ústní dutiny se říká moučnivka (soor). V dutině ústní se mohou projevat i virová onemocnění, ať už jde o místní virovou infekci (opar způsobený virem prostého oparu prvního typu – HSV-1) nebo o projevy celkových infekcí (např. tzv. Koplikovy skvrny při spalničkách).

6.1.3.2 Diagnostika infekcí dutiny ústní

Provádí se stěr ze spodiny ložiska, zasílá se na tamponu s transportní půdou a kultivuje se zpravidla na dvou agarových půdách

6.1.3.3 Léčba infekcí dutiny ústní

Léčba je většinou lokální, používají se různé antiseptické preparáty

6.1.3.4 Infekce hltanu a jícnu

O infekcích **hltanu** byla řeč v kapitole o respiračních infekcích.

Infekce **jícnu** jsou vzácné, prvotní příčinou je zpravidla narušení sliznice při zvracení, brániční kýla a podobně. V takových případech může být původcem *Helicobacter pylori* – viz dále u infekcí žaludku. Občas se také vyskytuje kvasinková infekce jícnu.

6.1.4 Infekce žaludku

6.1.4.1 Charakteristika infekce žaludku

Jak je známo, v žaludku je velmi kyselé prostředí, které vylučuje infekci většinou běžných patogenů. Dlouho se myslelo, že v žaludku je přítomnost bakterií vyloučena úplně. Teprve před několika desetiletími objevili Warren a Marshall (Austrálie) bakterii *Helicobacter pylori*, která si umí s kyselostí žaludečního prostředí poradit. Za svůj objev získali v roce 2005 Nobelovu cenu. Příčinou schopnosti přežít je výrazná ureázová aktivita. Ta umožňuje štěpit močovinu na oxid uhličitý a amoniak. Oxid uhličitý coby plyn vyprchá, amoniak zvyšuje pH v mikroprostředí kolem helikobaktera.

Helikobaktery má v žaludku 40 % obyvatel rozvinutých zemí. U některých je jejich přítomnost bezpříznaková, u jiných se podílejí na vzniku různých příznaků, od dyspeptických potíží až po **chronickou gastritidu a vředové onemocnění žaludku a dvanáctníku.**

6.1.4.2 Diagnostika infekce žaludku

Odebírá se zpravidla biopsie žaludeční sliznice. Více viz kapitola 6.2

6.1.4.3 Léčba gastrických vředů

Léčba musí zahrnovat jak potlačení helikobakterů (např. ampicilinem), tak u potlačení dalších faktorů (používají se zejména tzv. H2-blokátory).

6.1.5 Infekce a bakteriální toxikózy střeva

6.1.5.1 Rozdíl mezi střevní infekcí a bakteriální enterotoxikózou

Infekční průjem: Pacient pozře infekční dávku živých mikrobů. V těle pacienta se množí mikroby, po inkubační době zpravidla 1 – 10 dnů nastávají klinické potíže. Pacient může být zdrojem infekce pro další. V některých případech mikroby narušují střevní stěnu, v jiných tvoří toxiny – přesto jde o infekci, protože toxin je produkován ve střevě a nikoli požit s potravou.

Otrava z potravin: Není důležité, zda se do těla dostanou nějaké živé mikroby. Podstatné je, že je požit mikrobem vytvořený toxin, který po několika desítkách minut až nanejvýš hodinách začíná působit. Pacient není zdrojem infekce pro své okolí. Vzhledem k tomu, že tvorba toxinů se z mikrobů týká prakticky jen bakterií, hovoříme o bakteriálních enterotoxikózách.

6.1.5.2 Bakteriální průjmy působené obligátními patogeny

Významné jsou **salmonely** – druh *Salmonella enterica*. Kvůli stopování epidemí je důležité znát i antigenní typ salmonely. U nás je nejčastější typ (serovar) Enteritidis. Salmonely způsobují gastroenteritidy. Přenos je alimentární, infekce se šíří mezi volně žijícími ptáky (hlavně racky), od nich získá infekci domácí drůbež a od ní člověk – riziková jsou vajíčka a vaječné výrobky, ale i jiné potraviny, pokud jsou druhotně (sekundárně) kontaminované. Salmonelóza přibýlo od doby, kdy se drůbež začala koncentrovat ve velkodrůbežárnách. Na rozdíl od salmonelózy se **kampylobakteriáza** způsobená bakterií *Campylobacter jejuni* přenáší spíše drůbežím masem. Potravinového původu jsou i infekce způsobené **yersiniemi** druhů *Yersinia enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis*, které jsou záhadné tím, že infekce připomíná apendicitidu (zánět červovitého výběžku slepého střeva). Ubývá případů bacilární úplavice způsobené **shigelami**, která se šířila kontaminovanými vodními zdroji. S rozvojem ochrany vodních zdrojů nemoc zůstala jen jako nemoc špinavých rukou tam, kde je nízká úroveň hygieny, případně jako zavlečená infekce např. ze středomoří.

6.1.5.3 Bakteriální průjmy působené podmíněnými patogeny

Zde může jít o narušení střevního ekosystému, ale také o situaci, kdy virulentní kmen ve střevě nahradí kmeny málo virulentní. To je případ bakterie, která je nejběžnější součástí střevní mikroflóry – **Escherichia coli**. Virulentní serotypy zvané ETEC (enterotoxigenní) způsobují cestovatelské průjmy, kmeny EPEC (enteropatogenní) průjmy novorozenců a kojenců, velmi nebezpečné jsou verotoxigenní kmeny VTEC. Průjmy mohou způsobovat i **další enterobakterie.**

6.1.5.4 Bakteriální průjmy působené méně běžnými původci

Z anaerobů stojí za zmínku **Clostridium difficile** - je přítomno za normálních podmínek ve střevě, ale pokud je např. antibiotickou léčbou vybita ostatní střevní flóra, přemnoží se a významně produkuje toxin, jehož působením vzniká pablánový zánět střeva (pseudomembranózní enterocolitis). Významné jsou také některé serotypy **Clostridium perfringens**. V subtropích a tropech je významná **cholera** způsobená *Vibrio cholerae*. U oslabených osob, novorozenců, transplantovaných apod. hrají roli i další bakterie, např. **gramnegativní nefermentující bakterie.**

6.1.5.5 Léčba bakteriálních průjmů.

Až na naprosté výjimky (oslabení jedinci, průjem způsobený *Clostridium difficile* apod.) se nepodávají antibiotika. V **akutní fázi** se tedy doporučuje pouze aktivní uhlí (k adsorpci případných toxinů) a popř. střevní desinficiencia (Endiaron). Nevhodné jsou léky tlumící

peristaltiku (Reasec), protože se tím vyřazuje z provozu průjem jako přirozený mechanismus, kterým tělo odstraňuje škodlivé látky. **V rekonvalescentní fázi** je vhodné obnovení střevní mikroflóry bakteriálními kulturami či substráty pro ně vhodnými (kyselé zelí, živé jogurty apod.; účinnost reklamou doporučených preparátů jistě není malá, není však ani na místě ji přeceňovat).

6.1.5.6 Virové průjmy

Téměř polovina průjmů má virový původ. Virové průjmy jsou časté zejména u malých dětí do pěti let; novorozencům ještě skýtají ochranu mateřské protilátky. Nejčastějšími původci závažných průjmů malých dětí jsou **rotaviry**, hrozí dehydratace dětského organismu. Z dalších virů jsou významné **adenoviry**, **kaliciviry** a další. I některé typy viru chřipky, například populární typ H5N1, se projevují více průjmem než respiračními příznaky.

6.1.5.7 Parazitární průjmy

U nás jsou relativně vzácné, zato v tropech velmi časté. **Giardia lamblia** postihuje zejména děti, projevuje se špatnou absorpcí živit. V subtropích působí průjmy měňavka **Entamoeba histolytica**. Ve střevě najdeme i **škrkavku dětskou** – *Ascaris lumbricoides* a **tasemnice**. Trochu jiné parazity nacházíme u imunokompromitovaných osob. Například **Cryptosporidium parvum** je jedním z nejdůležitějších původců oportunních infekcí, způsobující úporné horečnaté průjmy u HIV pozitivních osob.

O všech těchto parazitech je blíže pojednáno v třinácté kapitole.

6.1.5.8 Otravy z potravin

Často se stává, že kuchařka, trpící kožní stafylokokovou infekcí, je zdrojem potravinové intoxikace toxinem **Staphylococcus aureus**. Dalším původcem potravinových otrav je např. **Bacillus cereus**, který se vyskytuje zejména v těstovinách a jiných obilných výrobcích. Vzácná, zato závažná je otrava způsobená bakterií **Clostridium botulinum**. Rizikové jsou zejména podomácku vyráběné konzervy. Botulotoxin je prudký nervový jed, který vyvolává obrny. Lokálně se v minidávkách využívá v kosmetice.

6.2 Vyšetření vzorků z gastrointestinálního traktu na jednotlivé skupiny mikrobů

6.2.1 Odběry materiálů z horní části gastrointestinálního traktu

6.2.1.1 Biopsie

O vzorcích materiálu odebíraného z těchto lokalizací platí totéž, co o bioptickém materiálu z plicní tkáně. Jejich odběr je také spojen s určitými obtížemi a musí být prováděn pomocí technicky i odborně náročných postupů. Nejčastěji užívanou metodou, která skýtá možnost odběru vzorků sliznice jícnu, žaludku nebo dvanácterníku, je **gastrofibroskopie s odběrem bioptátu**. Nejčastěji požadovaným vyšetřením bývá u vzorků žaludeční nebo duodenální sliznice přímý **průkaz Helicobacter pylori**. Může jít o **kultivaci** na speciální kultivační půdě (trvá pět dní). Další možností je přímá **mikroskopie** biopticky odebraného vzorku – vyšetření provádějí buď mikrobiologové, anebo svými vlastními technikami histologové. Lze také provést přímý **ureázový test** ve vzorku. Je to jediný případ z celé mikrobiologické diagnostiky, kdy se aplikuje biochemická identifikace na vzorek a nikoli na čistou kulturu kmene. Pomocí gastrofibroskopie lze získat i duodenální obsah pro diagnostiku některých **parazitárních onemocnění**, například giardiázy nebo strongyloidiózy (zejména při opakovaném negativním průkazu těchto agens ve stolici). Transport vzorků je obdobný jako u plicních biopsií, u přímého průkazu *Helicobacter pylori* je metodou volby odeslání kousků tkáně vložených do fyziologického roztoku. Doba transportu by neměla přesáhnout 24 hodin.

6.2.1.2 Zvratky

Méně častým druhem materiálu, který může být zaslán na mikrobiologické vyšetření, jsou **zvratky** obsahující většinou zbytky potravy. Většinou se jedná o případy suspektních

alimentárních intoxikací (stafylokoková enterotoxikóza, botulismus apod.) Tento druh materiálu nevyžaduje během transportu žádná speciální opatření, neboť vlastní vyšetření spočívá hlavně v průkazu toxinů. Pokud je to možné, bývají současně zasílány i zbytky podezřelé potraviny.

6.2.1.3 Urea breath test

Zvláštním případem testu je tzv. **urea breath test**, což je neinvazivní orientační průkaz ureázové aktivity *Helicobacter pylori*, využívaný hlavně u dětí. Pacientovi je perorálně podána radioaktivně značená močovina. Je-li v žaludku přítomen helikobakter, jeho ureázová aktivita rozštěpí močovinu a ve vydechaném vzduchu je pak významný podíl CO₂ s radiouhlíkem. Pokud helikobakter přítomen není, projde radiouhlík do střeva a je vyloučen stolicí.

6.2.2 Odběry materiálů z dolní části gastrointestinálního traktu

Důvodem k odběru materiálu zde obvykle bývá průjem, případně jiné dyspeptické potíže pacienta.

6.2.2.1 Odběr stolice na bakteriologické vyšetření

Až na výjimky se provádí odběr na **tampon**, který je posléze zanořen do **transportní půdy** (většinou **Amiesovy**). Tampon bez transportní půdy lze výjimečně akceptovat např. při opakovaném cíleném vyšetření na salmonely bez pátrání po dalších patogenech, jako jsou kampylobaktery. Odběr by neměl být povrchový, tampon je třeba zanořit do hloubi řitního kanálu. Chybou není zaslání kusové stolice, ale není to nutné.

Základem **vlastního vyšetření** je kultivace stolice na několika bakteriologických půdách. Používá se kombinace Endovy půdy (k záchytu enterobaktérií a jejich rozlišení podle schopnosti štěpit laktózu – tato schopnost je běžná u potenciálních patogenů, avšak ne u patogenů obligátních) a půd určených cíleně k záchytu např. salmonel, kampylobakterů a yersinií. Používá se také tekutá selektivně-pomnožovací půda – selenitový bujón, ze které se druhý den materiál vyočkovává na další pevné půdy. Teprve z těch se někdy zachytí možný patogen, kterého je však nutno ještě biochemicky a antigenně určit. Proto také výsledky bakteriologického vyšetření stolice jsou k dispozici až za dva až tři, výjimečně i čtyři dny.

U bakterií ze stolice se až na vyžádané výjimky (např. u oslabených pacientů) **nevyšetřuje citlivost na antibiotika**, protože antibiotika u střevních infekcí zpravidla nejsou indikována.

6.2.2.2 Odběr stolice na mykologické vyšetření

Je vhodný opět **tampon**, avšak tentokrát zanořený do **transportní půdy FungiQuick**, tak jako u jiných mykologických vyšetření. Ani samotný vyšetřovací postup se neliší od mykologického vyšetření jiných vzorků. Je ovšem nutno brát v úvahu, že nález kvasinek ve střevě ještě neznamená, že jsou tyto kvasinky původcem onemocnění.

6.2.2.3 Odběr stolice na parazitologické vyšetření

Na rozdíl od bakteriologie je nutná **kusová stolice**. Vzorky stolice určené na parazitologické vyšetření lze odebírat i za nesterilních podmínek, například přímo z podložní nebo toaletní mísy. Množství materiálu potřebné pro vyšetření je dáno kapacitou lopatky zabudované ve víčku komerčně vyráběného plastového kontejnerku. Takto získaná stolice může být použita k průkazu většiny parazitických prvoků i vajíček červů.

Výjimkou je **průkaz vajíček roupů** tzv. Grahamovou metodou. Zde se používá tenké průhledné pružné lepicí pásky, která se přelepí přes perianální řasy pacienta. Poté se páska opatrně stáhne i s vajíčky, která na ní ulpí, a nalepí se na čisté podložní sklo. U dospělých, kteří mívají chlupatou řiť, však toto vyšetření bývá obtížně proveditelné, a proto se zde spíše provádí klasické parazitologické vyšetření stolice.

Vlastní parazitologické vyšetření stolice je probráno v kapitole 13.

6.2.2.4 Odběr stolice na virologické vyšetření

Při odběru stolice na virologické vyšetření záleží na tom, zda má vzorek sloužit k izolaci agens, nebo zda má být přítomnost viru prokázána pomocí metod nevyžadujících jeho životaschopnost.

Pro **izolaci viru** je nezbytné zasílat odebranou stolicí **v kontejneru uloženém v termosce obsahující sáček s tajícím ledem** (transport bez mražení při 0 °C), což zvýší pravděpodobnost přežití agens. Agens se v tom případě virologové snaží izolovat např. na tkáňové kultuře, vyšetření se neliší od izolace viru z jiných materiálů.

Naopak **jakýkoli kusový vzorek** stolice stačí při použití průkazu antigenu, popř. PCR; průkaz je opět v principu stejný jako u jiných vzorků.

Téma 7 Močové infekce

7.1 Hlavní původci močových infekcí

Po respiračních druhé jsou infekce močových cest nejčastější vůbec, u dospělých jde o úplně nejčastější bakteriální infekce. Postiženy jsou častěji ženy, což má hlavně anatomické důvody.

7.1.1 Normální bakteriologická situace v močových cestách

Za normální situace je moč zdravého člověka prakticky sterilní tekutinou – bakterie usilující o vstup uretrou jsou zpravidla odplavovány proudem moče dříve, než se dostanou do měchýře. Překvapivě racionální jádro má tedy „babská rada“ počurání rány – opravdu může v nouzi pomoci tím, že jsou odplaveny nečistoty.

Žádná část močových cest tedy za normální situace nemá své mikrobiální osídlení. Výjimkou je zevní část uretry, kam přechází mikroflóra kůže, vulvy či předkožkového vaku.

U seniorů může být situace jiná. Dochází u nich k dlouhodobému osídlení zejména močového měchýře bakteriemi, nejčastěji *Escherichia coli*. Je-li nastolena rovnováha, může takové osídlení seniorovi sloužit jako „běžná mikroflóra“, tj. vlastně svého nositele chrání před jinými bakteriemi. Antibiotická léčba je v takovém případě jednak neúčinná, jednak také zbytečná a dokonce kontraproduktivní.

7.1.2 Typy močových infekcí

Nejběžnější je zánět močového měchýře (cystitis), vzniká obvykle vzestupnou cestou (z ústí močové trubice). Bývá vyvolána nejčastěji střevní mikroflórou, i když u žen také může infekce přejít do močového měchýře z pochvy.

Z ostatních typů močových cest jsou nejdůležitější záněty pánvičky ledvinné (pyelonefritidy).

Jejich původ může být opět vzestupný, ale méně často i hematogenní (tj. z krevního řečiště). Záněty močové trubice (uretritidy) se obvykle přenášejí sexuálně a u žen je způsobují často stejné mikroby jako poševní záněty. Proto budou detailněji probrány v příslušné kapitole.

7.1.3 Klinické projevy a diagnostika infekcí močového systému

K nejobvyklejším příznakům signalizujícím pravděpodobnou přítomnost uroinfekce patří časté nucení na močení, prováděná nezřídka pocitem pálení v uretře (polakisurie) a přítomnost hlenu, hnisu nebo krve v moči. Makroskopicky je moč při bakteriální uroinfekci více či méně zkalená, někdy i s příměsí krve a hlenu.

Mikrobiologickému vyšetření obvykle předchází orientační biochemické vyšetření, kde polyfunkční diagnostický proužek odhalí jednak přítomnost bílkovin, jednak i přímo bakterií v moči, na infekci upozorní i základní biochemické vyšetření moče. V močovém sedimentu lze nalézt množství polymorfonukleárů a bakterií, popřípadě erytrocyty a hlenové válce.

7.1.4 Původci infekcí močových cest

Poměrné zastoupení mikrobů je jiné u nekomplikovaných zánětů močových cest a jiné u zvláštních situacích. Může to být změna anatomických poměrů (strukturální abnormality): zbytnění prostaty, močové kameny, zúžení močových cest, gravidita, vrozené vady, permanentní katetrizace. Mohou to být ale také funkční změny, jako je tzv. vesikoureterální reflux (část moči se z měchýře vrací do močovodů), neurologické poruchy, cukrovka.

Zastoupení mikrobů se také liší u pacientů léčených ambulantně a u pacientů hospitalizovaných, kde pak mají výrazný podíl nozokomiální patogeny.

7.1.4.1 Původci nekomplikovaných, ambulantně léčených močových nákaz

cca 80 % *Escherichia coli*

cca 10 % enterokoky (hlavně *Enterococcus faecalis*)

zbytek: jiné enterobakterie (hlavně protey, klebsiely a enterobaktery), *Streptococcus agalactiae*, koagulasanegativní stafylokoky, kvasinky (hl. *Candida albicans*)

7.1.4.2 Původci močových nákaz u hospitalizovaných pacientů:

Escherichia coli jen asi 55 %

Klebsiella pneumoniae má větší podíl než u ambulantně léčených, bohužel časté kmeny produkující širokospektré betalaktamázy. Časté jsou i další enterobakterie

Významná je tu *Pseudomonas aeruginosa* a ostatní G- nefermentující tyčinky. Větší význam než u ambulantně léčených tu mají kvasinky, zejména rod *Candida*.

Samozřejmě i zde se uplatňují také enterokoky, i když v menší míře.

7.1.4.3 Jiní původci močových nákaz než bakterie a houby

Vyskytují se vzácně. Nález virů v moči souvisí spíše s jejich vylučováním močí při systémovém onemocnění. Z parazitárních nemocí je potřeba pamatovat na schistosomózu, zvláště u osob s anamnézou pobytu v tropech a subtropích.

7.2 Zásady odběru a transportu moče na bakteriologické vyšetření

7.2.1 Odběr moče

Při podezření na uretritidu je vhodné odebírat první porci moče (aby nedošlo k odplavení epitelii a tím i původců uretritidy). U předpokládané infekce vyšších etází močového systému, včetně postižení ledvinného parenchymu, je pak nutno vyšetřovat vzorek ze středního proudu moče, při infekci prostaty se doporučuje vyšetřit poslední porci moče, totéž doporučují také parazitologové u některých parazitárních infekcí močových cest.

V podstatě jediný způsob, jak odebrat moč zcela bez rizika kontaminace, je suprapubická punkce močového měchýře, což ovšem pro většinu pacientů s uroinfekcí, zejména pak ambulantních, nepřichází v úvahu. U hospitalizovaných osob se jeví vhodnější nejprve odebrat moč cévkovanou a teprve v případě diagnostických rozpaků zkusit suprapubickou punkci.

Protože většina odebraných vzorků je získána pouze vymočením pacienta do odběrové nádoby, nezbyvá, než činit taková opatření, která riziko kontaminace snižují na minimum. Mezi ně patří často opomíjené důkladné omytí ústí močové trubice mýdlovou vodou. Pacient tedy musí být náležitě poučen, anebo musí odběr provést sestra, nehledíc na své rozpaky.

Přehnaná péče, zahrnující oplach vydatnou dávkou desinfekčního prostředku, může na druhé straně vést k tomu, že se desinfekce dostane do nádoby se vzorkem a případné mikroby zahubí.

Moč se zpravidla odebírá do sterilní nádoby, existuje však ještě jedna možnost – odebrat moč do soupravy, která už přímo obsahuje jednu či dvě kultivační půdy. Půdy se přivedou do kontaktu s močí, ta se hned zase vylije a do laboratoře se pošlou vlastně takto naočkované půdy. Z různých praktických důvodů se však tato metoda příliš neujala.

7.2.2 Transport moče

Pokud není dostatečná záruka, že se odebraný vzorek moče dostane do dvou hodin do laboratoře, je nezbytné uchovávat jej až do transportu při chladničkové teplotě (tj. cca 4°C). Jinak totiž dojde zcela jistě k pomnožení přítomných bakterií nebo kvasinek a tím i ke zkreslení výsledku vyšetření. Moč se tímto významně odlišuje od většiny ostatních druhů klinického materiálu, u nichž je naopak ukládání do ledničky vysoce nežádoucí.

7.2.3 Co se pak s močí děje v laboratoři

V odůvodněných případech je možno provést (obvykle na požádání klinika) mikroskopické vyšetření moče, kdy je vzorek obarven Gramovou metodou (nejde tedy o vyšetření močového sedimentu, což je standardní postup pro biochemické vyšetření moče).

Většinou se však moč pouze kultivuje – na krevním agaru a jedné další půdě (Endova půda, anebo nověji nějaký chromogenní agar).

7.3 Semikvantitativní vyšetření moče, interpretace nálezů

7.3.1 Kultivační vyšetření moče

7.3.1.1 Pojem CFU

Pro pochopení následujícího textu je nutno rozumět pojmu CFU. CFU je anglická zkratka – colony forming unit, tedy kolonii tvořící jednotka. Může to být bakteriální jedinec, dvojice (zejména u diplokoků), případně malý shluk či krátký řetízek – v každém případě útvar, z kterého vyroste jedna kolonie. V praxi se většinou ztotožňuje počet CFU s počtem mikrobů, i když to není přesné.

7.3.1.2 Kvalitativní metoda

Při kvantitativním způsobu zpracování se moč ředí v poměru 1:10, 1:1000 a 1:10 000. Malé množství (obvykle 0,1 ml) každého ředění se vyočkovává na krevní agar a MacConkeyho nebo Endovu půdu. Po 24hodinové inkubaci se počítají kolonie až do toho nejnižšího ředění, kde je to ještě možné, a výsledek se násobí příslušným ředěním. Uvedená metoda je využívána zejména v provozech s menším počtem vyšetřovaných vzorků.

7.3.1.3 Semikvantitativní metoda

Řada laboratorních provozů zpracovávajících velká kvanta materiálu používá méně pracnou metodu semikvantitativní s použitím kalibrovaných mikrokliček o objemu 1, popřípadě 10 mikrolitrů. Po důkladném promíchání vzorku se kličkou nabere výše uvedené množství moče a rozočkuje se klasickým způsobem na plotnu krevního agaru a také nejméně na čtvrtinu misky MacConkeyho nebo Endovy půdy či některého chromogenního agaru. Druhý den se hodnotí počet kolonií narostlých na krevním agaru. Při použití mikrokličky o objemu 1 mikrolitr odpovídá 10 narostlých kolonií přibližně počtu 10^4 CFU v 1 ml vyšetřované moči, 100 a více kolonií pak svědčí o více než 10^5 CFU v 1 ml atd.

7.3.1.4 Bakterie potažené protilátkou

Ke zjištění, ze kterého „patra“ močového systému bakterie pocházejí, lze použít průkaz bakterií potažených protilátkou. Bakterie pronikající do tkáně ledviny, případně od tkáně močových, vyvolávají tvorbu protilátek. Vytvořené protilátky lnou na povrch bakteriální buňky a lze je prokázat pomocí protilátek proti lidské protilátce konjugovaných s fluorescenčním barvivem. Citlivost těchto vyšetření se pohybuje kolem 80 %, jejich specifita je asi 85%.

7.3.2 Výsledky kultivačního vyšetření a jejich interpretace

7.3.2.1 Riziko kontaminace při odběru

Moč patří bezpochyby k těm druhům klinického materiálu, které bývají relativně často kontaminovány. Ke kontaminaci dochází nejčastěji během odběru vzorku. Příčinou kontaminace bývají nejčastěji mikroby obývající ústí uretry. Jedná se zejména o různé druhy koagulázanegativních stafylokoků, či kožní korynebakteria. Příčinou uvedené kontaminace bývá nejčastěji nedostatečné očištění ústí uretry, ale i při správném postupu se malé množství kontaminantů může do moče dostat.

7.3.2.2 Permanentní močové katetry

bývají často osídleny různými druhy stafylokoků, gramnegativních nefermentujících bakterií nebo kvasinkami. Tyto mikroby, vykultivované v laboratoři, pak mohou být mylně pokládány za původce uroinfekce, přičemž skutečné etiologické agens unikne pozornosti. Takovéto falešně pozitivní výsledky vyšetření mohou mít, vzhledem k nesprávně indikované terapii skutečné infekce, pro pacienta i fatální důsledky, nebo přinejmenším značně prodlouží a prodrazí jeho léčbu. Asi nejjednodušším způsobem, jak takovým situacím zabránit, je výměna katetru, který se poté zasílá do laboratoře současně s lege artis odebraným vzorkem moči, a porovnání výsledku obojí kultivace.

7.3.2.3 Kontaminace při zpracování

Jako u všech ostatních materiálů, nelze ani zapomínat na možnost kontaminace přímo v laboratoři (kontaminace ze vzduchu, kontaminace použitého kultivačního média apod.)

7.3.3 Kritéria hodnocení výsledků kvantitativního či semikvantitativního vyšetření moče

Jeden mikrob, méně než 10^4 CFU v 1 ml	Kontaminace či náhodný nález. U stafylokoků se takto hodnotí i o něco větší množství, naopak u <i>S. agalactiae</i> jsme obezřetní i v případě takto malých počtů mikrobů
Jeden mikrob, množství $10^4 - 10^5$ CFU v 1 ml	Hraniční množství mikrobů. Může jít stále ještě o kontaminaci, ale také již o infekci. Je dobré posoudit, jde-li o ojedinělý či opakovaný nález
Jeden mikrob, množství větší než 10^5 CFU v 1 ml	Zpravidla se považuje za infekci, i když ani zde to nemusí být vždy pravda.
Dva mikroby, množství $10^4 - 10^5$ CFU v 1 ml, nebo tři mikroby bez ohledu na množství	Kontaminace, mikroby se neurčují a nezjišťuje se jejich citlivost na antibiotika
Výjimka z předchozího: jeden mikrob v množství více než 10^5 , dva mikroby naopak v množství nepatrném	„Bere se vážně“ pouze mikrob, kterého je nejvíc

7.3.4 Hodnocení vyšetřené moče u starých osob

U seniorů je potřeba počítat s tím, že mohou mít močové cesty osídleny určitými bakteriemi (např. *Escherichia coli*) a že v tomto případě nejde o patogena, ale o dlouhodobou kolonizaci. Ideální je, když je takový senior sledován dlouhodobě a lze porovnat jeho individuální „normální nález“ s momentálním stavem a posoudit, jde-li o infekci.

Téma 8 Pohlavně přenosné nemoci a nemoci kůže

8.0 Společný úvod do problematiky

Pohlavně přenosné nákazy jsou probírány v jednom tématu s nemocemi kůže hlavně proto, že společně navazují na obor dermatovenerologie. Infekce oka jsou k těmto tématům přičleněny proto, že infekce zevní části oka navazují na infekce kožní.

8.0.1 Nákazy pohlavních orgánů a pohlavně přenosné nákazy

Existuje mnoho nálezů, které mají nějaký vztah k pohlavním orgánům. V zásadě je lze rozdělit následujícím způsobem:

8.0.1.1 Klasické pohlavní nákazy

Jsou to infekce, u kterých se pohlavní přenos považuje (až na extrémně nepravděpodobné situace) za jediný možný, jde o závažné infekce, které podléhají zvláštnímu režimu hlášení a jsou u nich přísnější požadavky na ochranu osobních údajů.

8.0.1.2 Ostatní nákazy pohlavních orgánů

Sem patří široká škála infekcí, od těch, u nichž je pohlavní přenos hlavní cestou přenosu a tedy jsou blízké první skupině (např. trichomonóza) až po takové, které sice pohlavní orgány postihují, ale mechanismus přenosu je zpravidla jiný než pohlavní (např. poševní mykózy).

8.0.1.3 Pohlavně přenosné nákazy, nepostihující primárně pohlavní orgány

Jsou to nákazy, u nichž je sexuální přenos jednou z významných cest přenosu, avšak jako takové jsou systémové. Patří sem zejména některé typy virových hepatitid a infekce virem HIV. O obou je pojednáno v jiné kapitole.

8.0.2 Normální osídlení pohlavních orgánů a kůže

8.0.2.1 Normální osídlení pohlavních orgánů

Za normálních poměrů **nejsou mikroby přítomny**

- u **ženy** v děloze, vejcovodech, vaječnicích
- u **muže** v prostatě, chámovodech, varlatech

Specifickou normální flóru u **ženy** má vagína (laktobacily, příměs různých aerobních i anaerobních mikrobů). Vulva tvoří přechod vaginální a kožní flóry.

U muže je do jisté míry specifický předkožkový vak – vedle kožní flóry jsou tu i např. nepatogenní mykobakteria apod.

8.0.2.2 Normální osídlení kůže

Kůže je normálně osídlena směsí koaguláza negativních stafylokoků a nepatogenních korynebakterií, ale za normální tu lze považovat i malé množství zlatých stafylokoků, kvasinek aj.

8.1 Klasické pohlavní nemoci - přehled, odběr materiálu, přehled diagnostiky

Mezi klasické pohlavní choroby se zpravidla řadí pět onemocnění. Jen dvě z nich, totiž kapavka a syfilis, se běžně vyskytují u nás; ostatní jsou typická pro tropické a subtropické oblasti.

Choroba	Původce
Kapavka	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> („gonokok“)
Syfilis (příjice, lues)	<i>Treponema pallidum</i>
Měkký vřed (ulcus molle)	<i>Haemophilus ducreyi</i>
Granuloma inguinale	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>
Lymphogranuloma venereum	<i>Chlamydia trachomatis</i> serotypy L ₁ , L ₂ , L ₃

8.1.1 Kapavka

8.1.1.1 Charakteristika onemocnění

Původcem onemocnění je gramnegativní diplokok *Neisseria gonorrhoeae* (gonokok). Je to blízký příbuzný bakterie *Neisseria meningitidis* (meningokoka). Klinicky jde zpravidla o hnisavý zánět urethry a děložního hrdla. Mikrob bývá při infekci nalézán někdy také v řiti (u muže jako následek anogenitálního styku, u ženy se tam dostane s cervikálním sekretem). Může být diagnostikován i z faryngu (orogenitální styk) a je zde zálučný, protože ve většině případů chybějí příznaky.

Je to nemoc poměrně běžná; údaje z hlášení jsou podhodnoceny, protože mnoho případů se vůbec nedostane k lékařskému ošetření. I když k přenosu samozřejmě dochází při prostituci, je přenos běžný i u neprostitující osob se sklonem k promiskuitě.

Neléčená nebo špatně léčená kapavka může mít různé komplikace – záněty velkých kloubů, neplodnost mužů i žen

Léčí se penicilinem, případně ceftriaxonem a dalšími antibiotiky.

8.1.1.2 Odběr vzorku u kapavky

Tak jako při přenosu, tak i při transportu do laboratoře je gonokok velmi choulostivý. Je třeba věnovat velkou pozornost odběru, transportu i laboratorní kultivaci a i tak často průkaz není úspěšný.

Pro kultivační vyšetření se zasílá **výtěr na tamponu s Amiesovou** či jinou vhodnou **transportní půdou**. Dnes už se za překonané považují názory, že je nutná nějaká speciální transportní půda, jiná než pro ostatní bakterie. Zpravidla je zasílán výtěr z urethry, cervixu, řiti, popř. také faryngu. Poševní výtěr není vhodný.

U výtěrů z urethry a cervixu je potřeba zaslat zároveň i **nátěr na sklíčko**: když už se nezdaří kultivace gonokoka, je prokázán alespoň mikroskopicky. Nátěr však nemá smysl dělat z řiti a faryngu.

8.1.1.3 Diagnostika kapavky v laboratoři

Mikroskopie může být provedena i statimově (lze ji takto vyžádat). Sklíčko se barví dle Grama. Typický je nález G – diplokoků vně i uvnitř leukocytů. (To, že se mikrob nechá schválně uzavřít – avšak nikoli pohlitit – leukocytem, je charakteristická vlastnost gonokoků i meningokoků).

Kultivace se provádí na obohacené (čokoládový agar) a selektivně obohacené (GC agar) půdě na kapavku a trvá 48 až 72 hodin. Na běžných půdách (krevní agar, Endova půda) mikrob neroste. V případě pozitivity se pak ještě testuje citlivost na antibiotika. Zajímavostí je, že půdy se před kultivací předehtávají, aby nedošlo k teplotnímu šoku a tím uhynutí gonokoka. Kolonie se přirovnávají ke kapce rosy a jsou typické pozitivním oxidázovým testem.

Biochemická identifikace může pomoci odlišit gonokoka od meningokoka či jiných neisserií. Kultivace kapavky se zpravidla automaticky doprovodí kultivací na běžné bakterie, což často umožňuje při negativním výsledku rozpoznat pravého původce potíží.

8.1.2 Syfilis

8.1.2.1 Charakteristika infekce

Je to ještě závažnější pohlavní nemoc než kapavka. Způsobuje ji spirální bakterie (spirocheta) *Treponema pallidum*. Nazývá se také lues nebo česky příjice.

Syfilis pouze v počátečních stádiích postihuje pohlavní orgány, rozvinutá syfilis napadá různé orgánové soustavy celého těla (nervová syfilis čili neurolues, aneurysma aorty a podobně).

Dochází i ke změnám v chování (chování syfilitika pěkně zahrál Petr Čepek ve starším českém filmu *Petrolejové lampy*).

Také syfilis je častější onemocnění, než se zpravidla myslí. Míra podhlášení však není taková jako u syfilis, zpravidla se dříve či později dostane k lékařskému vyšetření.

Léčba: stále jsou preferovány velké dávky penicilinu

8.1.2.2 Diagnostika syfilis - přímý průkaz

Přímý průkaz je prováděn zřídka ze dvou důvodů. Jednak je velmi pracný (původce nelze kultivovat, ani barvit Gramem či Giemou), jednak je zřídka k dispozici vhodný materiál k odběru. Jedině u pacientů, u kterých je právě vytvořen tvrdý vřed, je možno provést z tohoto vředu seškrab. Takový materiál pak může být vyšetřen mikroskopii v zástině či speciálními technikami (stříbření, fluorescenční barvení) přímou imunofluorescencí metodou PCR pokusem na zvířeti (test infekčnosti pro králíka - RIT, rabbit infectivity test)

8.1.2.3 Diagnostika syfilis - nepřímý průkaz

Nepřímý (serologický) průkaz je u syfilis základem diagnostiky, je mnohem důležitější než přímý. Odebírá se srážlivá krev běžným způsobem.

V první fázi se provádějí screeningové reakce – obvykle RRR (rychlá reaginová reakce) a TPHA (Treponema pallidum hemaglutinační test - aglutinace na nosiči, nosičem jsou zvířecí krvinky) či novější TPPA (krevinky nahrazeny polycelulózovými částicemi, v zájmu zachování tradic obarvenými na červeně).

V případě pozitivní nebo alespoň hraniční reakce screeningových reakcí se pokračuje dalšími testy: imunofluorescence, ELISA, Western blotting. Jejich kombinací lze zjistit i fázi onemocnění a podobně

8.2 Nemoci pohlavních orgánů, které nepatří mezi klasické pohlavní nemoci

8.2.1 Přehled původců nemocí pohlavních orgánů

8.2.1.1 Papilomaviry

Papilomaviry jsou viry, způsobující útvary v genitální oblasti, hlavně na děložním čípku

Infekci papilomaviry lze považovat za prekancerózu

Diagnostika papilomavirózy je obtížná, nové šance nabízejí genetické metody (genové sondy, PCR)

Papilomavírové onemocnění se léčí zákrokem na děložním čípku

8.2.1.2 Chlamydie

Jsou to sice bakterie, ale svými vlastnostmi blízké virům. Na rozdíl od *Chlamydia trachomatis* L₁, L₂ a L₃, které způsobují klasickou pohlavní nemoc v tropech, serotypy D až K jsou běžné ve vyspělých zemích a způsobují méně specifické postižení pohlavních orgánů.

Také diagnostika chlamydiových infekcí je obtížná, i v tomto případě se prosazují genetické metody.

Chlamydiová infekce je léčitelná některými antibiotiky

8.2.1.3 *Trichomonas vaginalis* – bičienka poševní

Je to prvok – bičíkovec, způsobuje poševní výtoky. Přenos je převážně pohlavní, avšak možný i přenos např. ručníkem apod.

Diagnostika: mikrobiální obraz poševní; a/nebo souprava C. A. T. (Candida and Trichomonas), která umožňuje zároveň diagnostiku kvasinkové infekce.

Léčba – metronidazol, působí kromě trichomonád i na poševní anaeroby

8.2.1.4 Poševní mykózy

Představují houbové (kvasinkové) onemocnění pochvy. Pohlavní přenos je u nich relativně málo významný. Infekce se do pochvy dostává náhodnou manipulací nebo ze střevního rezervoáru.

Nicméně i v tomto případě je nutno léčit oba (nebo všechny, je-li jich víc než dva) sexuální partnery. V léčbě je významná dieta (omezení cukrů), úprava menstruačního cyklu (kvasinky mají receptory pro estrogeny) apod. Nejvýznamnější je *Candida albicans*.

8.2.1.5 Různé bakteriální záněty

Vedle bakteriální vaginózy (viz dále) jsou možné i klasické bakteriální záněty pochvy (kolpitydy, nesprávně vaginitidy). Na rozdíl od vaginóz mají charakter klasického zánětu, tj. je přítomen hnisavý výtok, mikroskopicky leukocyty. Je však často velmi obtížné odlišit původce zánětu od náhodného nálezu nebo kolonizace pochvy. Nejčastěji nalézáme enterobakterie, enterokoky, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*. Někteří mikrobiologové nález enterobakterií či enterokoků v pochvě vůbec nehodnotí a netestují citlivost na antibiotika.

Léčba v každém případě má smysl jen při přítomnosti příznaků zánětu, nikoli u bezpříznakového (asymptomatického) nosičství bakterie. Výjimkou je *S. agalactiae*, jehož nález vždy indikuje pokus o eradikaci, protože představuje riziko novorozeneckých sepsí.

8.2.1.6 Bakteriální vaginózy

Bakteriální vaginóza je stav, kdy normální flóra poševní je narušena a v pochvě se nacházejí jiné bakterie, zejména rody *Gardnerella*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma* a anaerobní bakterie. Je to v zásadě narušení poševního ekosystému, není tu jeden jednoznačný původce. Mechanismus infekce zahrnuje i inhibici prostupu bílých krvinek do pochvy, proto zánět není hnisavý a mikroskopicky ne nachází jen málo leukocytů.

Antibiotická léčba (metronidazolem) je možná, ale důležitější je obvykle obnovení normální mikroflóry (např. laktobacilovými čípkami), dietní opatření, úprava cyklu (někdy změna hormonální antikoncepce) apod. U diabetiček může velmi pomoci kompenzace základního onemocnění.

8.2.1.7 Další pohlavně přenosné nákazy

Při pohlavním kontaktu se mohou přenášet také herpesvirová onemocnění. Jsou velmi častá. Přestože často dochází i k infekci virem prvního typu oparu (HSV1 – to je typ, který jinak působí zpravidla opar rtů), tento virus se na pohlavních orgánech nezachycuje a nedochází k dlouhodobému usazení viru v gangliích nervových buněk. Naproti tomu HSV2 (druhý typ) způsobuje chronické infekce.

Zvláštním případem je přenos některých ektoparazitů, především jde o veš muňku (*Phthirus pubis*, „filčka“).

Jak již bylo řečeno, pohlavní přenos je jednou z cest přenosu u některých systémových onemocnění: hepatitidy, AIDS

8.2.2 Diagnostika infekcí pohlavního systému

8.2.2.1 Přehled diagnostických metod

Ke **kultivaci** se používá transportně kultivační souprava C. A. T. (diagnostika kvasinek a trichomonád) plus klasická bakteriologická Amiesova půda (diagnostika bakterií včetně gardnerel, mykoplazmat a anaerobů).

CAT se vyočkuje na Sabouraudovu půdu, poté se však nevyhodí, nýbrž se i sám kultivuje v termostatu, po kultivaci zpravidla 24 h se provádí mikroskopie ve formě nativního preparátu.

V poslední době se znovu začínají prosazovat **nátěry na sklíčko**. Doporučuje se tedy poslat zároveň s výtěrem buďto jedno nebo dvě sklíčka pro mikroskopické vyšetření. V případě jednoho sklíčka je nutno dohodnout, zda má být obarveno dle Grama, dle Giemsy či jinak.

Důležité je doprovodit výtěr, popř. sklíčko, správně vyplněnou **průvodkou**. Kromě obvyklých údajů je u žen vhodný i údaj o fázi menstruačního cyklu.

V době menstruace není mikrobiologické vyšetření vhodné, vyjma akutních případů. Obraz je totiž zkreslený, zejména zvýšené množství leukocytů se při menstruaci najde i fyziologicky.

8.2.2.2 MOP – mikrobiální obraz poševní

U klasického vyšetření MOP se posílají dvě sklíčka. Jedno se obarví dle Grama, druhé dle Giemsy (hlavně kvůli trichomonádám)

Hodnotí se jednak kvantita jednotlivých útvarů, jednak celkový vzhled preparátu. Klasické dělení uznává šest typů mikrobiálního obrazu poševního. V současnosti se hodnocení MOP přeprocovává, zatím však uvádíme dělení klasické:

MOP I – tzv. normální obraz zdravé ženy – epitelie, leukocyty, laktobacily (G+ tyčinky)

MOP II – bakteriální nehnisavý výtok. Tento obraz má mnoho zdravých žen. Může ale znamenat i bakteriální vaginózu. V tom případě se nacházejí tzv. clue cells – „klíčové buňky“, epitelie, na kterých jsou adherovány různé bakterie, zejména gardnerely (což jsou gramlabilní kokotyčinky, typický obraz „pepř a sůl“).

MOP III – bakteriální hnisavý výtok (klasická hnisavá kolpitida)

MOP IV – kapavka (mnoho leukocytů, gramnegativní diplokoky vně i uvnitř leukocytů)

MOP V – trichomonóza (u akutní opět mnoho leukocytů, trichomonády se nacházejí hlavně v Giemsově barvení)

MOP VI – kvasinková infekce (kromě kvasinek může být různý obraz – paralelní bakteriální infekce, větší či menší množství leukocytů apod.)

8.3 Infekce v těhotenství, infekce plodu a novorozence

Infekce plodu a novorozence

8.3.1 Základní pojmy

Infekce plodu se označují jako infekce kongenitální (vrozené), méně často jako infekce intrauterinní, těsně před porodem získané se někdy nazývají prenatální. Jsou následkem matčiny nákazy, jež se přenesla na její plod. Naproti tomu infekce novorozence (neonatální infekce) jsou způsobeny agens nalézajícími se v jeho okolí. Z hlediska novorozence jsou prvním cizím prostředím, s nímž se setkává, porodní cesty. Infekce zde získané během porodu lze označit jako infekce perinatální, infekce získané později, do 4 týdnů života jako infekce postnatální.

8.3.2 Vrozené (kongenitální) infekce

Většina mikrobů je teoreticky schopna zničit plod a způsobit jeho potrat, příp. porod mrtvého dítěte. Plodové obaly a placenta však poskytují dostatečnou ochranu proti běžným mikrobům. Existují přesto mikroby, které tuto ochranu překonávají a nakazí plod. Je-li tato infekce mírná, plod přežívá a narodí se dítě s vrozenou infekcí, zjevně nemocné nebo s vrozenými vadami. Pro svůj nezralý imunitní systém nedovede infekci zlikvidovat a zůstává nakaženo ještě dlouho po narození.

Důležitým faktorem, který určuje výsledek infekce plodu, je období gravidity, kdy k matčině infekci došlo. V prvním trimestru je pro zárodek nejnebezpečnější infekce virem zarděnek (rubeola). Vzhledem k neukončené organogenezi mívá značný teratogenní vliv. Naproti tomu *Treponema pallidum* není schopna překonat placentární bariéru před 26. týdnem gravidity.

8.3.2.1 Přehled původců

K viru **zarděnek** je plod nejvímavější v prvních třech měsících těhotenství. Vrozená infekce virem zarděnek může mít za následek jednak potrat na samém začátku gravidity, jednak vrozené vady oka, vnitřního ucha a srdce, případně i další komplikace. Ne každý plod se infikuje, při matčině infekci ve druhém měsíci je postižena asi čtvrtina novorozenců. Virus se vylučuje močí a z hrdla ještě několik měsíců po narození.

Rovněž vrozená **cytomegalie** (infekce cytomegalovirem) se projevuje psychomotorickou retardací, poruchami oka a postižením sluchu a dalšími problémy. Po primární infekci matky v těhotenství bývá nakaženo až 40 % plodů. Asi desetina se rodí se známkami vrozené cytomegalie, u zbytku se mentální retardace a poruchy sluchu mohou projevit až později v dětství.

Následkem i bezpříznakové infekce matky v těhotenství prvokem *Toxoplasma gondii* může být potrat, porod mrtvého plodu nebo vrozená **toxoplazmóza**. Následky bývají horší při infekci během třetího trimestru. Typické je postižení mozku a sleziny. Často se dítě rodí zdánlivě zdravé a příznaky se dostaví až za několik let.

Vrozená **syfilis** u nás znamená selhání zdravotnického systému: podaří-li se nakaženo u těhotné diagnostikovat a léčit do čtvrtého měsíce gravidity, k infekci plodu nedojde. *Treponema*

pallidum totiž není schopno překonat placentu do cca 26. týdne gravidity. Klasické příznaky vrozené příjice zahrnují zánět nosní dutiny, změny na kůži a sliznicích (tzv. lakové patičky), hepatosplenomegalii a další změny. Jedinou známkou vrozené lues však může být pouhá přítomnost pozitivních serologických testů.

Vrozená **listerióza** je poměrně vzácná. Infekce matky *Listeria monocytogenes* však postihne plod prakticky vždy a pokud ho neusmrtí, vede k předčasnému porodu. Onemocnění se nazývá granulomatosis infantiseptica a vyznačuje se septikémií a abscedujícími granulomy ve vnitřních orgánech. Novorozenec se však může nakazit i během porodu, příp. krátce po něm. V popředí pak stojí příznaky pneumonie nebo meningitidy.

Infekce **virem varicelly-zosteru** (VZV, plané neštovice a pásový opar) v prvním trimestru může výjimečně též vyvolat vznik vrozených vad. Nebezpečnější je však varicella matky těsně před porodem, kdy dítě bez ochrany mateřskými protilátkami je ohroženo zničující generalizovanou infekcí.

Plod může být **dále** ohrožen i při infekci matky parvovirem B19, virem herpes simplex (HSV), virem HIV a dalšími.

8.3.2.2 Laboratorní průkaz vrozené infekce

Laboratorní průkaz kongenitálních infekcí je obtížný. O přímý průkaz např. kultivační se lze pokusit u potracených plodů, resp. mrtvých novorozenců, při suspektní kongenitální cytomegalii, zarděnkách, listerióze a toxoplazmóze. U živě narozených dětí se přímý průkaz uplatní u kongenitální cytomegalie a zarděnek (průkaz viru – kultivačně nebo imunofluorescencí - v moči, v krevních leukocytech a v mozkomíšním moku), výjimečně (zástin nebo přímá imunofluorescence) u vrozené syfilis.

Ve většině případů se při podezření na vrozenou infekci pokoušíme o průkaz nepřímý, serologický. Vycházíme z toho, že placentou procházejí (přesněji: jsou aktivně transportovány) jen mateřské IgG. Novorozenec tedy má stejnou až vyšší hladinu stejných protilátek IgG jako jeho matka, což se stanovuje ve vzorku pupečnickové krve. Protilátky třídy IgM pro svoji velkou molekulu přes placentu neprojdou, proto jakékoli protilátky IgM prokázané v pupečnickové krvi se považují za vlastní protilátky novorozence a svědčí pro to, že infekce byla získána před narozením čili je kongenitální. K potvrzení diagnózy je rovněž možno v průběhu prvních měsíců života vyšetřovat paralelně krev dítěte i matky. Mateřské protilátky z krve dítěte postupně vymizí (poločas je 20 dní), jeho vlastní IgG zůstanou. Serologický průkaz je důležitý hlavně u kongenitální syfilis, toxoplazmózy, cytomegalie a zarděnek.

8.3.2.3 Léčba a prevence vrozených infekcí

Možnost terapie existuje jen u některých kongenitálních infekcí. V léčbě kongenitální syfilidy je suverénním lékem penicilin. U kongenitální toxoplazmózy bychom se pokusili zasáhnout např. rovamycinem, u listeriózy ampicilinem. Bezmocní jsme zatím byli u kongenitální rubeoly, cytomegalie a dalších viróz. S nástupem nových antivirotik se však i tu rýsují určité možnosti (např. ganciklovir).

K prevenci kongenitálních nákaz patří řádné proočkování populace proti zarděnkám a tuberkulóze. Důsledné a důkladné mytí rukou po kontaktu expozici vůči kočičímu trusu a po manipulaci se syrovým masem ochrání těhotnou i její plod před toxoplazmózou. Včasný vyšetření těhotné na syfilis umožní její léčbu a ochrání tak plod před nákazou.

8.3.3 Novorozenecké (neonatální) infekce

Perinatálně čili během porodu se novorozenec nakazí obvykle při průchodu infikovanými porodními cestami, méně často matčinou krví. Nebezpečí hrozí zvláště při předčasném odtoku plodové vody. **Postnatální infekce (po porodu)** hrozí spíše v nemocničním nebo hygienicky nevyhovujícím prostředí. Zatímco u kongenitálních infekcí převažovaly jako jejich původci viry, u infekcí neonatálních hrají hlavní roli bakterie.

8.3.3.1 Přehled původců perinatálních infekcí

Nejčastější perinatální infekcí je pravděpodobně tzv. **blenorhoea neonatorum**, zánět spojivkového vaku vyvolaný některým ze **serotypů D až K *Chlamydia trachomatis*** infikujícím matčin cervix. Jedná se většinou o nezávažné onemocnění dobře reagující na místní léčbu. Vzácně infekce pronikne do respiračního traktu a vyvolá zánět plic.

Je s podivem, že nejčastější sexuálně přenosné onemocnění, totiž infekce čípku způsobené **papilomaviry**, se vytvořením papilomů v hrtanu novorozence projeví jen zřídka.

Moučnivku (soor) v dutině ústní vyvolávají kandidy, zejména *Candida albicans*. Vyskytuje se často u nezralých novorozenců.

Poměrně často se na novorozence přenáší během porodu **virus hepatitidy B (HBV)**. Infikuje se naprostá většina dětí narozených matkám-nosičkám HBV. Infekce je však většinou bezpříznaková.

Z dalších virů se perinatálně přenáší **virus prostého oparu (HSV)**, především typ 2. Působí těžký generalizovaný novorozenecký opar. Závažné jsou rovněž perinatálně získané infekce **virem planých neštovic-pásového oparu (VZV)**, enteroviry a HIV.

Pro zrak nebezpečná **blenorhoea neonatorum způsobená *Neisseria gonorrhoeae*** je vzácná, protože existuje úspěšná profylaxe tzv. credésací. Jedná se o povinné ošetření očí každého novorozence vhodným antiseptikem. Původně užívaný roztok dusičnanu stříbrného byl nahrazen např. Ophthlamo-Septonexem nebo Ophthlamo-Framykoinem.

Vážné jsou **infekce novorozence *Streptococcus agalactiae***. Postrádá-li matka a tudíž i novorozenec protilátky, je vysoké riziko, že kolonizace novorozence při porodu přejde v infekci. Ta probíhá ve dvou formách, časná a pozdní. Časná je běžnější, vzniká během 1 až 3 dnů po narození většinou po komplikovaném nebo předčasném porodu. Probíhá pod obrazem sepse s příznaky pneumonie nebo meningitidy. Úmrtnost je vysoká, následky po příp. přežití těžké.

V pochvě matky se naleznou streptokoky skupiny B, často ve velkém množství. Kolonizace pochvy je přitom bezpříznaková, takže matka si jí vůbec není vědoma. Pozdní forma vzniká až za týden i později po porodu a většinou probíhá jako meningitida.

Infekci mohou způsobovat i další bakterie.

8.3.3.2 Přehled původců postnatální infekce

Po narození je novorozenec, zejména v nemocničním prostředí, vystaven i patogenním mikrobům z prostředí, hlavně z ošetřujících osob. I po porodu trvá nebezpečí infekce ***Streptococcus agalactiae*** a **gramnegativními tyčinkami** se vznikem meningitidy. **Zlaté stafylokoky** mohou vyvolat hnisavou konjunktivitidu, zánět pupku (omfalitis), pyodermii vedoucí až k sepsi, výjimečně, pokud kmen produkuje zvláštní epidermolytický toxin, stafylokokový syndrom opařené kůže. U novorozence neimunní matky je v tomto období vysoce nebezpečný **virus prostého oparu**. Hůře než u dospělých probíhají i jiné infekce, např. salmonelózy mají tendenci ke generalizaci a vzniku sepse a meningitidy, *Pseudomonas aeruginosa* naopak vyvolává těžké průjmy.

I když mateřské mléko chrání kojence zejména proti infekcím gastrointestinálního traktu, je třeba si uvědomit, že může obsahovat některé viry. Přesto však pozitiva kojení vysoce převažují nad riziky.

8.3.3.3 Laboratorní průkaz novorozeneckých infekcí

Při laboratorním průkazu neonatálních infekcí se klade důraz na rychlost vyšetření. Klasická kultivace musí být zejména u meningitid doplněna rychlými postupy. Obrovský význam tu má mikroskopické vyšetření sedimentu likvoru obarveného dle Grama a průkaz bakteriálních antigenů v likvoru, v krevním séru nebo v moči latexovou aglutinací.

Je třeba mít na zřeteli, že při podezření na infekci kupř. *Neisseria gonorrhoeae* nebo *Chlamydia trachomatis* je třeba použít zvláštních odběrových souprav a zvláštních způsobů kultivace, příp. detekce mikrobiální DNA.

8.3.3.4 Léčba a prevence novorozeneckých infekcí

Závisí na typu mikrobiálního agens. K dispozici je řada preparátů účinných při novorozeneckých sepsích a meningitidách (cefotaxim, ceftriaxon aj.). Antivirotikum acyklovir se ukázalo účinným při herpes neonatorum, zidovudin zase brání perinatální infekci HIV. V profylaxi přenosu hepatitidy B se osvědčil specifický lidský imunoglobulin.

8.4 Nemoci projevující se na kůži a jejich diagnostika. Infekce oka (základní přehled)

8.4.1 Přehled onemocnění s kožními projevy

- Na kůži se mohou projevovat onemocnění, postihujících přímo kůži. To se týká různých stafylokokových dermatitid i kožních mykóz. Tyto nemoci mohou být primární (postihovat přímo neporušenou kůži), nebo sekundární (napadat kůži např. rozškrabanou – tímto mechanismem třeba vzniká sekundární bakteriální infekce u dítěte trpícího roupy)
- Na kůži mohou probíhat projevy mnoha virových a některých bakteriálních onemocnění, která jsou jinak systémová, tj. postihují celý organismus
- Na kůži může být také přítomna toxická či alergická reakce na přítomnost mikroba, či v souvislosti s imunitní reakcí, s podáním antibiotika a podobně. Jako alergie probíhají i infestace ektoparazity (např. svrab).

8.4.2 Virová exantémová onemocnění

- Charakter exantému je často typický a zkušený lékař je schopen určit nemoc
- Prostý opar I. či II. typu, většinou jen na určitých místech
- Pásový opar (VZV) podél nervů; týž virus dělá i plané neštovice
- Očkování zredukovalo spalničky i zarděnky
- Vyskytuje se Pátá dětská nemoc – megalerythema infectiosum, a také Šestá dětská nemoc – roseola infantum
- Exantém bývá i u EB virózy, cytomegalovirózy a dalších

8.4.3 Některá bakteriální exantémová onemocnění

(systémová bakteriální onemocnění s kožními projevy)

- **Spála – scarlatina:** způsobuje ji *Streptococcus pyogenes*, ale jen některé jeho kmeny - ty, které produkují tzv. erythrogenní toxin. Podobné příznaky mohou způsobovat i některé kmeny stafylokoků
- **Erysipel – růž** vyvolává týž mikrob, ale jinými mechanismy a u podstatně starších osob
- **Petechie u meningokokové meningitidy** jsou často tím jediným, co ji odlišuje od jiných onemocnění
- **Erythema migrans** – stěhovavé začervenání u lymeské borreliózy

8.4.4 Nemoci postihující primárně přímo kůži

- **Bakteriální** - nejčastěji stafylokoky (hnisavá ložiska přímo v kůži, ve vlasech, nehtech apod.).
 - *Intertrigo, opruzení*, vzniká třením vlhké pokožky nejčastěji v tříslech v kožních záhybech obézních osob a kojenců. Infikuje se *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* a enterobakteriemi.
 - *Impetigo*, povrchová, vysoce nakažlivá infekce epidermis zvl. u malých dětí, je nyní vyvolávána častěji *Staphylococcus aureus* než *Streptococcus pyogenes*, nejčastěji však oběma společně.
 - *Folliculitis* je povrchová infekce vlasového folikulu. Z ohraničených žlutých pustulek obklopených erytémem se vypěstuje obvykle *Staphylococcus aureus*. Z kontaminovaných vířivých lázní je možno získat folikulitidu způsobenou *Pseudomonas aeruginosa*.

- *Acne vulgaris* je nepřenosné zánětlivé onemocnění mazových žlázek. Najdeme tu hlavně anaerobní *Propionibacterium acnes*. Jeho úloha ve vzniku onemocnění ale není prvotní a význam tu mají spíše vlivy hormonální a imunologické.
- *Furunculosis* je rozsáhlejší stafylokoková infekce folikulu šířící se do sousední šikary. Furunkl (nežít) je vlastně drobný kožní absces. Vícečetné splývající furunkly se nazývají carbunculus, ty se tvoří zvláště na šíji.
- *Sycosis barbae* je v podstatě chronická splývající folikulitida ve vousaté části obličeje. Působí ji *Staphylococcus aureus*.
- *Některé nemoci získané od zvířat*, např. erysipeloid – červenka
- *Sekundární infekce popálenin* bývají velmi nebezpečné. Častým původcem jsou vysoce rezistentní bakterie, např. *Pseudomonas aeruginosa*
- **Houbová** – nejčastěji rody *Trichophyton* a *Epidermophyton* (více v kapitole 13)
- **Parazitární** – např. svrab, ale i např. mnoho tropických parazitárních nemocí. Více o nich naleznete v kapitole 13.

8.4.5 Diagnostika nemocí s kožními projevy

- U řady běžných dětských nemocí není laboratorní diagnostika nutná, nemoci jsou poznatelné klinicky
- Pokud by se měly diagnostikovat, dělá se to zpravidla serologicky
- U spály je podstatné vyšetření výtěru z krku, které odhalí streptokoka
- U infekcí kůže jako takové se odebírá hnis či exsudát (je-li co odebrat), jinak se provádějí stěry, otisky apod.
- Odběr materiálu na mykologické vyšetření je popsán v kapitole 13

8.4.6 Infekce oka

Infekce **zevních částí oka** mohou způsobovat kožní bakterie, zejména zlaté stafylokoky (např. stafylokokové "ječné zrno" – hordeolum, hnisavý zánět žlázy očního víčka). V tropech může za chronický zánět slzného ústrojí *Chlamydia trachomatis*, serotypy A, B, Ba a C. Trachom je světově nejčastější příčinou slepoty.

Infekce **hlubších částí oka** jsou způsobeny nejrůznějšími bakteriemi (*Moraxella*, dle švýcarského očního lékaře), houbami, prvoky (*Toxoplasma gondii*, akantaméby), houbami, viry (herpesviry) a dalšími patogeny. Někdy se stávají i kuriózní případy, např. je nalezena živá larva parazita v oční komoře.

V **diagnostice** infekcí zevních částí oka je nutno odlišit infekci od kontaminace. U infekcí hlubších částí je každý bakteriální nález významný. **Léčba** je podle situace buď lokální, celková nebo kombinovaná

Téma 9 Infekce krevního řečiště. Vybrané infekce postihující celý organismus (systémové infekce). Infekce nervového systému

9.1 Etiologie a diagnostika sepsí a endokarditid, odběry a interpretace nálezů

9.1.1. Důležité pojmy:

Sepse - klinicky (a mikrobiologicky) definovaná jednotka; bakterie = spouštěcí mechanismus sepse. Ne vždy jsou u sepse bakterie skutečně prokázány!

Bakteriémie - pouhé konstatování přítomnosti bakterií v krvi (neřeší se význam)

Pseudobakteriémie - případ, kdy bakteriologické kultivace krve je pozitivní, ale přitom nejde ani o bakteriémii, natož o sepsi. Zpravidla je příčinou kontaminace na kterékoli úrovni

Septický syndrom = systémová zánětlivá reakce organismu na infekci krevního řečiště

9.1.2 Charakteristika sepse

Sepse je závažné systémové onemocnění s charakteristickými hemodynamickými změnami a se zhoršenou funkcí orgánů. Ta je vyvolaná interakcí mikrobiálních produktů s makrofágy, přičemž se uvolní množství cytokinů.

9.1.2.1 Klinická charakteristika sepse:

- Horečka nebo hypotermie; často se vysoké horečky s hypotermií střídají
- Tachykardie
- Snížený krevní tlak
- Zmatenost

9.1.2.2 Patologická fyziologie sepse:

- Zvýšený srdeční výdej
- Snížený periferní cévní odpor

9.1.2.3 Biochemická charakteristika sepse

- Leukocyty zvýšené či snížené
- Sérový hydrogenuhličitan snížený

9.1.3 Typy bakteriémie

9.1.3.1 Kontinuální (stálá) u celkových infekcí:

Například břišní tyfus (*Salmonella Typhi*), brucelóza (*Brucella mellitensis*). U některých infekcí může tento typ bakteriémie nastat sekundárně – viz 9.1.3

9.1.3.2. Intermitentní (přechodná) u lokalizovaných infekcí:

Mohou to být např. pneumonie (pneumokoky), meningitidy (meningokoky), pyelonefritidy (*Escherichia coli*) a nejrůznější další typy orgánových infekcí

9.1.3.3 Bakteriémie při infekcích uvnitř krevního řečiště:

Může jít o tromboflebitidy (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*), akutní endokarditidy (tytéž dva a navíc pneumokok, gonokok), subakutní endokarditidy, tzv. sepsis lenta (viridující streptokoky, enterokoky) apod.

Endokarditidy (záněty nitroblány srdeční) vznikají zpravidla tehdy, když je endokard již narušen, např. revmatickou horečkou či srdeční operací.

9.1.4 Jak vzniká sekundární bakteriémie, popřípadě sepse

9.1.4.1 Při generalizaci orgánového onemocnění

Například salmonelóza (netyfová) se za určitých okolností (zejména u malých dětí a oslabených osob) může šířit do celého organismu. Podobně se mohou generalizovat močové infekce (urosepsy), infekce v dutině břišní apod.

9.1.4.2 Při některých zhoubných nádorech:

Ca tlustého střeva (*Streptococcus bovis*), leukemie (aeromonády, některé bacily a klostridia)

9.1.4.3 Při poranění

Z kůže se do krevního řečiště dostávají stafylokoky, korynebakteria, popř. streptokoky a jiné. Zvláštním případem je bakteriémie po pokousání zvířetem

9.1.4.4 Při nitrožilní aplikaci drog:

kožní flóra (stafylokoky, korynebakteria), ústní flóra (neisserie, eikenely, i patogeny z nosohltanu), bakterie z prostředí (klostridia, bacily)

9.1.4.5 Iatrogenní (tj. zdravotnickým zásahem způsobená)

extrakce zubů (ústní streptokoky, anaeroby), bronchoskopie (flóra nosohltanu vč. případných respiračních patogenů), cévkování (*E. coli*), apod.

9.1.5 Některé zvláštní případy sepse

Fulminantní seps – seps s překotným průběhem, typické pro meningokoky
Nozokomiální (nemocniční) seps – zvláštní případ nemocniční infekce

9.1.6 Odběr krve - hemokultury

9.1.6.1 Kdy a jak odebrat

Hemokultury by se měly odebrat pokud možno **tři**, při vzestupu tělesné teploty pacienta. Odběr musí být přísně sterilní, nesmí být kontaminován z kůže. Je-li u každého odběru krve chyba, pokud sestra nepočká na zaschnutí desinfekce, tady je to přímo zločinem.

Odběr má být optimálně proveden vždy z nové venepunkce. Odběr ze zavedeného žilního vstupu není chybou, neměl by se však počítat do celkového počtu hemokultur. Nález totiž nesevídčí o bakteriích v krevním řečišti, ale spíš o kolonizaci vstupu. Na druhou stranu, u pacientů v těžkém stavu je někdy nutno z představ „jak by se to mělo optimálně provést“ trochu slevit.

Hemokultury je zbytečné odebrat „pro jistotu“ tam, kde nic nenasvědčuje přítomnosti bakterií v krevním řečišti. Naopak, je-li již důvod hemokultivaci provést, stojí za to ji provést pořádně a odebrat více hemokultur správným způsobem.

9.1.6.2 Jak označit průvodku

U hemokultur musí být bezpodmínečně vždy uvedeno nejen datum, ale i přesný čas odběru.

Také musí být uvedeno, zda jde o krev z venepunkce, žilního vstupu na periferní či centrální žíle a podobně.

9.1.6.3 Průběh hemokultivace

Dnes se hemokultury odebírají prakticky vždy do lahviček pro automatickou kultivaci, které obsahují nejen protisrážlivou tekutinu, ale i přímo kultivační médium. Laboratoř je pouze zaeviduje a umístí do automatu.

Pokud automat hlásí pozitivitu, udělá se z hemokultury gramem barvený nátěr. Mimo to se hemokultury vyočkují na KA, Endovu půdu, na KA s 10 % NaCl, a také na předběžný test atb citlivosti. Sestava antibiotik se volí podle výsledku nátěru.

Pozitivita hemokultury a výsledek nátěru se také zpravidla telefonicky hlásí ošetřujícímu lékaři.

9.1.6.4 Interpretace nálezů

Je třeba hlídat, zda případná pozitivita svědčí o bakteriémii nebo pseudobakteriémii. Právě proto musí být hemokultury odebrány tři: jen tak lze porovnat nálezy v jednotlivých hemokulturách.

Pro bakteriémii (a ne pseudobakteriémii) svědčí to, že:

- kultivační automat indikoval pozitivitu ve všech hemokulturách po zhruba stejném čase
- byl nalezen mikrob nejen stejného druhu, ale i vlastností (stejná morfologie kolonií, stejné biochemické vlastnosti kmene)
- nález odpovídá klinickému stavu.

Předběžný test citlivosti je nutno chápat jako orientační, protože namísto standardní suspenze o určitém počtu bakterií v jednotce objemu zde byla pro očkování napřímo použita tekutina z hemokultivační lahvičky, která může obsahovat různý počet mikrobů a která samozřejmě jako zdrojová suspenze pro antibiotické testy není určena. Proto je lepší počkat na **test definitivní** – tam, kde mikrobiolog považuje nalezeného mikroba za skutečného původce infekce krevního řečiště, testuje většinou kvantitativně (mikrodilučním testem nebo E-testem).

Píseň - Hemoškovadlo

1. Byla jedna z kalných zimních neděl
v houfu mračen den se ve tmě smrákal
Primář právě do bujónu hleděl
je to čiré, nebo je tam zákal?
Tuhle službu, tu mi byl čert dlužen -
- do bujónu hledět na šestý den
Lepší hledat útočiště u žen
nežli zkoumat krev co je tu týden

R. A přitom jej náhle napadlo:
Zakoupíme hemoškovadlo
Nejsme blbci, máme filipa
Koupíme si stroj, co zapípá

2. Do přístroje hemoška se strčí
Ostatní už automat si hlídá
Kultivuje, spokojeně vrčí
Technika tu lidskou práci střídá
Když se zvuky začnou linout divné
Je to znakem, že tam něco roste
Automat nám vzorek hned vyplivne
Milý Watsone, je to tolik prosté!

R. Dobře, že primáře napadlo
Zakoupiti hemoškovadlo
Důležité je mít filipa
Koupit si ten stroj, co zapípá.

9.2 Infekční hepatitidy a AIDS

V těchto skriptech se zaměřujeme na infekce jednotlivých orgánových soustav. Jsou ale také infekce, které se k žádné orgánové soustavě přímo přiřadit nedají, protože postihují celý organismus. Zde vybíráme alespoň dvě nejzávažnější: infekční žloutenky (přestože primární je zánět jater – hepatitida, jde vždy o komplexní postižení celého těla) a infekce způsobené virem lidského imunodeficitu, tedy HIV.

9.2.1 Infekční hepatitidy

Viry infekčních žloutenek nejsou navzájem příbuzné. Viry se označují jako HXV (X = A, B, C, D, E), žloutenky jako VHX (virová hepatitida X).

9.2.1.1 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).

Nejdůležitější hepatitidy:

Typ	Nukleová kyselina	Čeleď - není předmětem zkoušky	Přenos (převažující)	Možnost přechodu do chronicity
VHA	RNA	Enteroviridae	Fekálně-orální	Ne
VHB	DNA	Hepadnaviridae	Sexuální, krví	Ano
VHC	RNA	Flaviviridae	Krví, snad sexuální	Ano
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 krví - narkomani apod. Není jasné, jak se přenášela v době, kdy žádní narkomani nebyli. Snad je možný i pohlavní přenos, ale není to jasné.

9.2.1.2 Antigenní struktura viru hepatitidy B

U studentů bakalářského stupně zpravidla nevyžaduje povědomost o jednotlivých mikrobiálních antigenech. U hepatitidy B je však základní povědomí o této věci důležité pro diagnostiku. Virus hepatitidy B (kompletní virová částice) je 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 "virus-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.

9.2.1.3 Diagnostika hepatitid

- **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:** vedle kliniky hlavně nepřímá ELISA.
- **HDV:** diagnóza VHB; nepřímá ELISA apod.
- **HEV:** nepřímá ELISA (u nás se zatím ne všude provádí)

9.2.1.4 Léčba, profylaxe, prevence

V léčbě se používají hepatoprotektiva, tedy látky chránící játra. Dříve se používalo také podání antiséra (léčebná pasivní imunizace), ale upouští se od ní. VHB se kromě toho léčí interferonem. V prevenci se používá očkování proti VHA (inaktivovaná) a VHB (používá se často rekombinantní očkovačká látka, tj. geneticky připravená vakcína). V současné době je v Česku zařazeno očkování proti VHB do pravidelného očkovacího kalendáře. Očkování proti VHA je doporučováno zejména při výjezdech do zahraničí (včetně středomoří).

9.2.2 Infekce působené virem HIV

Virus HIV je RNA virus, 100 - 120 nm velký. 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).

9.2.2.1 Význam

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 začnou objevovat jednotlivá specifická stadia:

- **PGL** (perzistentní generalizovaná lymfadenopatie – zvětšené uzliny, únava, pocení, teploty)
- **ARC** (AIDS-Related Complex – příznaky podobné AIDS, ale méně vyjádřené)
- **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 bérků) a sliznicích.

9.2.2.2 Diagnostika

Provádí se serologie - ELISA; prokazují jednak určité antigeny, jednak specifické protilátky proti určitým antigenům. U pozitivních se provádí (v národní referenční laboratoři) ověření tzv. Western blotem (imunoelktroforéza). V poslední době se prosazuje přímý průkaz pomocí PCR.

9.2.2.3 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 (= ddI, 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 vši osvětě je nutno brát v úvahu, že i HIV pozitivní člověk zůstává člověkem a neměl by stát mimo společnost.

9.3 Etiologie a dg. purulentních meningitid

9.3.1 Význam infekcí CNS obecně (patří i k tématu 9.4)

Jsou sice poměrně vzácné, ale mohou mít závažný průběh. Ročně jsou u nás na 100 000 obyvatel zaznamenány v průběhu dva případy bakteriální meningitidy a deset případů meningitidy virové. Smrtnost bakteriální meningitidy neléčené je vyšší než 70 %, léčené asi 10 %.

9.3.2 Jak se infekce dostanou do CNS (obecně, opět i k tématu 9.4)

- krví (meningokoky)
- přímým prostupem tkáněmi (pneumokoky nebo hemofily ze středního ucha)

- podél nervů (virus prostého oparu, virus vztekliny)
- přímo po poranění (pneumokoky, stafylokoky, nokardie, aspergily)

9.3.3 Rozdělení infekcí CNS (obecně, opět, patří i k tématu 9.4)

- 1) Akutní meningitidy (záněty mozkových plen) bakteriální
- 2) Akutní meningitidy (záněty mozkových plen) virové
- 3) Chronické meningitidy - méně časté, např. tuberkulóza
- 4) Encefalitidy (záněty mozkové tkáně jako takové) - zpravidla virové
- 5) Akutní mozkové abscesy (velmi vzácné, ale závažné)
- 6) Chronické mozkové abscesy

9.3.4 Odlišení purulentní (hnisavé, bakteriální) meningitidy od virové

Při odlišení pomáhá:

- **anamnéza** (u klíšťové encefalitidy například kontakt s klíštětem)
- **klinický nále**z (hnisavé meningitidy mívají rychlý průběh, v některých případech vidíme typické příznaky – například vyrážka u meningokoků)
- vyšetření likvoru **cytologické** (vzhled a počet buníček)
- vyšetření likvoru **biochemické** (bílkoviny a glukosa)
- a samozřejmě vyšetření **mikrobiologické** (mikroskopie, antigeny, kultivace)

Typické nálezy v likvoru uvádí tabulka (znalost konkrétních hodnot se u zkoušky nevyžaduje)

znak	norma	purulentní meningitida	aseptická meningitida
buníčky	0-6/μl	↑↑↑ (>1000)	↑↑ (100-500)
proteiny	20-50 mg/100 ml	↑↑ (>100)	↑ (50-100)
glukosa	40-80 mg/100 ml	↓ (<30)	~ (30-40)

9.3.5 Typičtí původci bakteriálních infekcí CNS

9.3.5.1 Akutní meningitidy

Přehled nejčastějších původců v závislosti na věku uvádí tato tabulka:

věk	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Haemophilus influenzae b</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	jiné	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
0 až 1 m.	50					10
1 až 4 r.		70	15	33	10	
5 až 29			45	25	20	
30 až 59			10	40	33	
Nad 60				25	50	15

U hemofila influenzae jde o specifický serotyp – jinak je tato bakterie běžně přítomna v krku i u zdravých osob. U *Neisseria meningitidis* („meningokok“) jde zase o virulentní kmeny, zároveň musí být vnímavý i pacient – např. po nadměrné fyzické zátěži, poškození sliznici (kouření!) a podobně.

9.3.5.2 Chronické meningitidy

Chronické meningitidy jsou mnohem vzácnější než akutní. Může je způsobovat *Mycobacterium tuberculosis* (tzv. meningitis basilaris) a některé houby, hlavně aspergily a *Cryptococcus neoformans*

9.3.5.3 Mozkové abscesy

U akutních se uplatňuje smíšená anaerobní a aerobní flóra - stafylokoky (zlaté i koagulázanegativní, *Streptococcus pyogenes*). U chronických pak *Mycobacterium tuberculosis*,

nokardie, houby a někteří paraziti. Například může být absces způsoben tasemnicovým boubelem.

9.3.6 Diagnostika bakteriálních infekcí CNS

O „předmikrobiologické fázi“ byla řeč výše. Mikrobiologicky se vyšetřuje zpravidla **mozkomíšní mok**, i když lze zaslat pro srovnání i krev na hemokulturu, popř. výtěr z krku.

Mozkomíšní mok se ihned po přijetí mikrobiologickou laboratoří **mikroskopuje**, a u vážných podezření na infekci CNS se provádí **přímý průkaz antigenu**. Následuje **kultivační** diagnostika – důležité je nezapomenout na obohacené půdy (čokoládový agar). Veškeré nalezené kmeny je potřeba důkladně identifikovat, u meningokoků až na úroveň séroskupiny kvůli očkování. Při **interpretaci** je nutno vzít v úvahu, že i při vyšetření likvoru je možná (a běžná) kontaminace. Takže třeba nález koagulázanegativního stafylokoků, navíc v malém množství, je třeba brát s rezervou, zejména pokud byl odběr likvoru proveden jen pro jistotu a pacient je mezitím již klinicky zcela v pořádku.

9.3.7 Léčba a prevence bakteriálních infekcí CNS

9.3.7.1 Léčba

V první řadě je vždy třeba zajistit **základní funkce** pacienta, zejména u fulminantně probíhajících stavů (meningokokové meningitidy).

Teprve pak přicházejí na řadu **antibiotika**, nejlépe podle předpokládané citlivosti a zároveň ovšem tak, aby byl zajištěn dobrý průnik do mozkomíšního moku. Používá se ceftriaxon, ampicilin, a stále i chloramfenikol

9.3.7.2 Prevence a profylaxe

Celá populace dětí se dnes preventivně očkuje proti **hemofilové** infekci.

U **meningokoků** se očkuje až při výskytu potvrzené nákazy takovým meningokokem, který lze očkováním postihnout. Zatímco proti séroskupinám A a C očkování působí, proti séroskupině B bohužel ne.

9.4 Etiologie a dg. virových infekcí CNS a boreliózy

9.4.1 Virové infekce CNS

9.4.1.1 Původci

Nejčastější původci aseptických meningitid:

- virus klíšťové encefalitidy
- virus Ťahyňa a další tzv. arboviry (= ARthropod BOrne, přenášené členovci)
- enteroviry: virus dětské obrny, tzv. coxsackieviry, echoviry a další
- virus spalniček
- virus průušnic (většinou bezpříznaková infekce)
- herpesviry (virus prostého a pásového oparu, cytomegalovirus)
- virus HIV
- virus vztekliny
- prionová agens ("nemoc šílených krav")
- Vzácně způsobují podobné příznaky i některé bakterie: leptospiry, borrelie (viz dále), Mycobacterium tuberculosis

Nejčastější původci encefalitid

- virus klíšťové encefalitidy
- virus prostého oparu
- enteroviry
- virus průušnic

9.4.1.2 Diagnostika

K laboratornímu průkazu etiologie aseptické meningitidy je třeba kombinovat virologický průkaz přímý i nepřímý.

Přímý průkaz: Likvor se vyšetřuje klasicky kultivací na tkáňových kulturách a na sajících myšatech; v případě parotitidy lze užít i kuřecí embrya. U některých agens se používá molekulárně biologická diagnostika metodou PCR.

Nepřímý průkaz: Akutní a rekonvalescentní vzorek krve se odebírá v každém případě a vyšetřuje na titr protilátek proti neurovirům, i když jsme si vědomi, že právě u enterovirů není serologický průkaz vzhledem k velkému počtu typů obvykle možný. Zpravidla není nutno na průvodku vypisovat všechny možné neuroviry – laboratoř zpravidla rozumí požadavku „serologie respiračních virů“ a provede vyšetření protilátek proti nejběžnějším virovým, ale případně i bakteriálním agens.

9.4.1.3 Léčba a prevence

Léčba je většinou jen symptomatická, tj. léčí se příznaky. Zato je u některých virových neuroinfekcí možná specifická prevence. Zejména je to očkování proti klíšťové encefalitidě. Proti klíšťové encefalitidě se očkuje dvěma dávkami, většinou v zimě, kdy není sezóna klíšťat. Příští zimu se pak přidá třetí, tzv. boosterová dávka. Takové očkování pak vydrží nejméně několik let, i když někteří ho doporučují po třech až pěti letech jednou dávkou obnovit.

9.4.2 Borreliové neuroinfekce

Borrelia burgdorferi sensu lato je bakterie spirálovitého tvaru (spirocheta). Pokud způsobuje infekce CNS, je charakter infekcí blízký spíše virovým infekcím než bakteriálním. Proto také borreliové neuroinfekce tvoří společnou otázku s virovými.

9.4.2.1 Význam a rozdělení

Rod *Borrelia* nezahrnuje jen původce lymeské nemoci – klíšťové borreliózy: *Borrelia recurrentis* a *Borrelia duttoni* způsobují návratnou horečku.

Nám se však jedná o druh *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Tento druh „v širším slova smyslu“ (to je vyjádřeno tím „sensu lato“) vlastně zahrnuje několik klíšťaty přenášených druhů, způsobující lymeskou nemoc. Nejdůležitější jsou *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (= v užším slova smyslu), *B. garinii* a *B. afzelii*. U nás se vyskytuje hlavně druhá a třetí z nich; jejich příznaky bývají nervové. V USA se vyskytuje spíše první z nich a příznaky bývají častěji kloubní. Nemoc má tři stádia, od nespecifických ke specifickým. Klasickým příznakem jsou stěhovavé červené skvrny (**erythema chronicum migrans**). Příznaky neuroborreliózy jsou podobné příznakům virových onemocnění CNS. V zásadě mohou být různé, podle toho, která část (nebo části) CNS je zasažena (jsou zasaženy).

9.4.2.2 Diagnostika

Z **přímých metod** je možná **mikroskopie** z krve je možná pomocí zástinové či fluorescenční mikroskopie. **Kultivace** je možná, ale tak obtížná, že se nepoužívá. Rozvíjejí se **genetické metody**.

Základem diagnostiky je však **nepřímý průkaz – serologie**. Ten zahrnuje vedle **nepřímé imunofluorescence** především různé varianty metody **ELISA** a **Western blottingu**.

U borreliózy také nelze tak docela spoléhat na IgG a IgM protilátky - sice se zjišťují, nicméně často nález neodpovídá (IgM přítomny u staré infekce, chybějí u akutní apod.)

9.4.2.3 Léčba

Zde je rozdíl oproti virovým neuroinfekcím: dají se používat antibiotika, nejčastěji penicilin, amoxicilin, ceftriaxon či tetracyklinová antibiotika.

Téma 10 Nozokomiální nákazy

10.1 Nozokomiální nákazy - charakteristika, rozdělení, hlavní původci

10.1.1 Definice a rozdělení nozokomiálních nákaz

10.1.1.1 Definice nozokomiálních nákaz

Nosokomiální nákazy (NN) jsou infekce vzniklé v souvislosti s pobytem ve zdravotnickém zařízení (na rozdíl od tzv. infekcí komunitních). Postiženo je nejméně 5 % pacientů v nemocnicích.

Mezi NN nepatří infekce zdravotnického personálu. Je ale jasné, že problematika profesionálních infekcí ve zdravotnictví s problematikou NN úzce souvisí a zpravidla jsou řešeny současnými opatřeními.

10.1.1.2 Rozdělení nozokomiálních nákaz

- **Exogenní NN:** zdroj = ostatní pacienti, personál, prostředí; cesta přenosu = nejčastěji neumyté ruce personálu
- **Endogenní NN:** zdroj = sám pacient

10.1.2 Důsledky NN

- **Zvýšená úmrtnost** – až o 40 % (odhadem u nás až stovky úmrtí ročně)
- **Prodloužení hospitalizace** (o týdny) a její zdražení (o desetitisíce i více Kč/případ)
- **Ekonomické ztráty** cca 1,5 miliardy Kč/rok
- Nutná další **antibiotická terapie** (jednak stojí hodně peněz, jednak má nežádoucí účinky)
- Pacienti s nozokomiální nákazou jsou zase **zdrojem pro další pacienty**

V žádné zemi na světě se nepodařilo zabránit všem případům NN. Nicméně se tvrdí, že nejméně jedné třetině NN by bylo možno zabránit.

10.1.3 Hlavní druhy NN

10.1.3.1 Močové infekce

Jsou důležité zejména u katetrizovaných nemocných. Přestavují až cca 40 % všech NN. Jejich výskyt souvisí s návyky ošetrovatelského personálu, jakož i s druhy používaných katetrů

10.1.3.2 Respirační infekce

Představují cca 20 % všech NN. Patří sem zejména tyto typy infekcí:

- **Ventilátorové pneumonie časně** - do 4. dne hospitalizace ("lepší" možnost - pacient je zpravidla infikován komunitním kmenem, který si sám do nemocnice "přinesl" zvenčí)
- **Ventilátorové pneumonie pozdní** - od 5. dne hospitalizace (původci jsou vysoce rezistentní nemocniční kmeny)
- **Aspirační pneumonie** (při zvracení, u pacientů s poruchami vědomí apod.)
- **Jiné respirační infekce**

10.1.3.3 Hnisavé infekce operačních ran

Také tyto představují cca 20 %. Jejich výskyt je velmi závislý na typech operačních zákroků a také různých predispozičních faktorech pacienta

10.1.3.4 Infekce cévního řečiště

Jsou to především sepse při zavedených i. v. katétrech. Představují až cca 15 % všech NN a jsou velmi závažné. Problémem je u nich také diagnostika - je velmi obtížné odlišit u nich skutečného původce od kontaminace (viz kapitola 9).

10.1.4 Původci NN

10.1.4.1 Obecná charakteristika původců NN

Jako původci NN se uplatňují mikroby, které zpravidla nejsou příliš virulentní (zdravého člověka by nenapadly), ale zato se dokáží velice dobře adaptovat na nemocniční prostředí. Zpravidla se rychle selektují kmeny odolné vůči desinfekci a rezistentní k široké škále antimikrobiálních látek. Jsou to zpravidla původně mikroby ze zevního prostředí, často patogeny rostlin.

10.1.4.2 Nejdůležitější původci NN

Typickými patogeny NN jsou **gramnegativní nefermentující tyčinky**, které uvedenou charakteristiku beze zbytku naplňují (*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, rod *Acinetobacter*).

Z **enterobakterií** se uplatňují nejvíce ty, které vedle života ve střevě obratlovců jsou dobře schopné i života mimo střevo: klebsiely a serratie. To ale neznamená, že by třeba *Escherichia coli* nebyla významným původcem zejména močových NN.

Legionely se uplatňují zejména v zařízeních se špatnou klimatizací nebo rozvody vody. Chybou může být slepé rameno nebo nepoužívané rameno rozvodu zejména teplé vody.

U NN typu katetrových sepsí (sepsí způsobených kontaminovanými žilními katetery) se velmi často objevují stafylokoky – koaguláza negativní, méně často i *Staphylococcus aureus*. **Grampozitivní koky** se občasné mohou podílet i na dalších typech NN.

Kromě bakterií mohou být původci NN i **kvasinky** (především *Candida*) a viry, např. cytomegalovirus, ale i virus hepatitidy B.

10.1.4.3 Výjimky

Jsou ovšem případy, kdy výše uvedené neplatí, a kdy se původcem stává v podstatě kterýkoli mikrob podobně jako u komunitních infekcí:

- tam, kde k NN došlo **náhodou**: např. když se dva pacienti vzájemně nakazí jen náhodou právě v nemocnici, mohli by se nakazit kdekoli jinde
- u **endogenních NN** (zde mají významné slovo mimo jiné anaerobní bakterie).

10.1.5 Predispozice k NN

10.1.5.1 Věk

Rizikové jsou oba věkové extrémny, tedy jak novorozenecký a kojenecký věk, tak také stáří.

Důvodem, proč jsou starší lidé náchylnější k NN je to, že často trpí souběhem několika chorob, jsou u nich narušeny přirozené mechanismy bránící infekci (např. proud moče je zpomalen ochabnutím svaloviny pánevního dna a u starých pánů také hyperplazií prostaty) apod.

Základní onemocnění: postižení jater, diabetes, nádory, úrazy i různá jiná onemocnění

10.1.5.2 Léčebné vlivy

léčba farmaky: cytostatika, steroidy, antibiotika (hlavně širokospektrá - šance pro rezistentní bakterie a pro kvasinky)

jiná léčba: veškeré zavádění cizorodých (hlavně plastových) materiálů do organismu - chlopnění náhrady, venosní katetry, ale i močové cévky

10.2 Prevence a hlášení nozokomiálních nákaz

Je velmi důležité dodržovat preventivní opatření, aby nedocházelo k NN, ale také zabránit dalšímu šíření NN, pokud již k NN došlo.

10.2.1. Předcházení NN

10.2.1.1 Návyky personálu

Snad nejdůležitější je zabezpečit správné návyky personálu - od sanitářů až po primáře. Není vůbec samozřejmostí správné mytí rukou. Osvícené nemocnice zavedly směrnice pro správné mytí rukou. Ukazuje se, že mnozí lidé včetně zdravotníků si špatně myjí palce, oblast na hřbetě ruky nad klouby a další místa. Pro nácvik je nejlepší praktické otestování (na ruce se nanese

prostředek, který svítí v UV záření). Samozřejmě nejde jen o hygienické a chirurgické mytí a desinfekci rukou, ale také používání rukavic, správná manipulace s jehlami po použití (odhazování do tlustostěnných boxů bez přímé manipulace s jehlou), organizace práce (striktní rozlišení "čistých" a "špinavých" stolků apod.)

10.2.1.2 Provozní opatření

Strategie dále zahrnuje používání sterilních nástrojů (raději jednorázových než sterilizovaných), obvazového materiálu, léků, tekutin apod., zabezpečení manipulace s čistým a kontaminovaným prádlem (nekřížení), manipulace s jídlem apod.

Do této oblasti patří také správná ošetrovatelská praxe - prevence proleženin, péče o operační rány, o močové katetry a žilní vstupy, a samozřejmě také poučení pacienta.

10.2.1.3 Stavebně technická opatření

Součástí je také zabezpečení stavební dispozice zdravotnického zařízení, zabezpečení teplé i studené vody, odpadních vod, pevných odpadů (kontaminovaných i běžných), topení či klimatizace apod. Některé patogeny využívají právě problémů vyskytujících se v této oblasti. Například legionely se množí v rozvodech klimatizace či ve slepých ramenech vodovodních vedení. Aspergily se zase často vyskytnou tam, kde dochází ke stavebním úpravám. Toto vše je třeba sledovat při výstavbě nových zdravotnických zařízení i při úpravách zařízení stávajících. Osvícené nemocnice již při volbě architekta dbají na to, aby architekt měl základní povědomí o požadavcích na zdravotnické stavby.

10.2.1.4 Vytvoření systému surveillance

Systém surveillance (= "epidemiologická bdělost", tedy podrobné sledování) se používá v epidemiologii v řadě případů, tedy zdaleka ne jen u NN. Je potřeba dopředu stanovit ukazatele, které jsou sledovány, tým, který se na surveillanci podílí, a mechanismy, které jsou v případě NN uplatněny. Nezbytná je součinnost mikrobiologů, nemocničních epidemiologů a "stýčných důstojníků" na klinických odděleních (z řad lékařů i ošetrovatelského personálu).

10.2.1.5 Zvyšování odolnosti pacientů i personálu

Imunizace některých nemocných je cestou, jak zvýšit jejich šanci pro boj s možnými NN. V úvahu připadá očkování proti chřipce u starších nemocných, proti pneumokokovým infekcím (před transplantací, před odstraněním sleziny), proti virové žloutence B (u seronegativních před dialýzou), případně proti viru pásového oparu a neštovic.

Antibiotická profylaxe se doporučuje tam, kde pacient je oslabený a kde hrozí při operačním zákroku průnik bakterií do tkáně. Týká se zejména tzv. „špinavé“ chirurgie, ale i dalších oborů. Měla by být provedena cíleně (ne paušálně "protože je to zvykem") a správně (v naprosté většině případů stačí jedna dávka antibiotika podaná těsně před zákrokem)

10.2.2 Řešení případů NN

Pokud již došlo k NN, je třeba je vyšetřit zejména v případě, že se jedná o závažnou infekci (polyrezistentní kmen - MRSA, VRE, producent ESBL), anebo se NN vyskytla ve větším množství případů, jde tedy o epidemický výskyt NN

10.2.2.1 Práce týmu v rámci surveillance

Prvotní impuls, že je potřeba něco řešit, může vzejít:

- od **mikrobiologa** (nález MRSA, producenta ESBL apod.)
- od **nemocničního epidemiologa** (nalezení problémů v rámci dozoru na oddělení) nebo
- **přímo z oddělení** (podle klinických příznaků odpovídajících NN).

V každém případě je nutno, aby se případem zabýval **celý tým**.

- Úkolem **mikrobiologů** je evidence případných dalších výskytů stejného kmene mikroba.
- **Epidemiolog** musí zabezpečit epidemiologické šetření na místě. Cílem je zjištění (a zajištění) zdroje infekce, prověření mechanismů přenosu, případně odstranění dalších rizikových mechanismů a praktik

- **Oddělení** musí přijmout taková opatření, aby nedocházelo k dalšímu šíření NN. V některých případech může jít o opatření nepopulární a zdánlivě finančně ztrátové (izolace pacienta s NN → snížení obložnosti, případně dokonce zavření celého oddělení na nějakou dobu). Je ale nutno si uvědomit, že ztráty z nekontrolovaného šíření NN by byly i ekonomicky daleko větší (o etické nepřijatelnosti ani nemluvě).

10.2.2.2 Koncepční management NN v rámci zdravotnického zařízení

Kromě "výkonného" týmu musí existovat ještě "koncepční" tým, který reflektuje případy NN z dlouhodobého hlediska. Může pak rozhodovat o formě provedení stavebních úprav, zajištění dodávek vhodných katetrů a podobně. Takový tým musí zahrnovat i zástupce vedení nemocnice (či polikliniky), vedení významných oddělení či klinik apod.

10.2.2.3 Evidence NN mimo zdravotnické zařízení

Závažné případy NN by se měly promítnout i do přehledů územních orgánů hygienické služby. Je to proto, že pacienti jsou často překládáni mezi nemocnicemi, propouštěni a opět přijímáni - je tedy nutno zajistit obecnou informovanost o NN v určitém regionu.

Na celostátní úrovni zabezpečuje management NN útvar hlavního hygienika při ministerstvu zdravotnictví, a různé komise a skupiny při odborných společnostech.

Téma 11 Hnisavé a anaerobní infekce

11.1 Etiologie a diagnostika infekcí ran, způsoby odběru

11.1.1 Původci ranných infekcí

Zastoupení jednotlivých původců ranných infekcí se liší dle místa a povahy poranění. Zhnisá-li **běžné povrchové zranění**, bývá příčinou především *Staphylococcus aureus*, méně často beta-hemolytické streptokoky (zejména *Streptococcus pyogenes*, streptokoky skupin G, F, C i jiné). U **těžkých dopravních úrazů** se zhmožděním a u válečných poranění hrozí klostridiové anaerobní infekce, zvané též klostridiové myonekrózy nebo anaerobní traumatózy (*Clostridium perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi*, *C. histolyticum* aj.) a strnutí šíje čili tetanus (*C. tetani*). K rozvoji tetanu ale může dojít i u **menších poranění**, především bodných (typické pro píchnutí vidlemi, zvláště pokud byly znečištěny koňským hnojem), ale i u poranění na pohled banálních, kde v ráně zůstalo cizí těleso (trn, tříška).

Operační rány infikují především *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* a z koagulázanegativních stafylokoků prakticky jen *Staphylococcus epidermidis*. Často se jedná o mikroby z okolí chirurgického zákroku. Kupř. rány po střední chirurgii postihují příslušníci čeledi *Enterobacteriaceae* (hlavně *Escherichia coli* a *Proteus* spp.) a anaerobní bakterie.

Zranění získaná ve sladké vodě mohou infikovat pseudomonády a aeromonády. Poranění utrpěná v **mořské vodě** často napadají tzv. halofilní vibria a atypická mykobakteria.

V tropech se i drobná poranění pravidelně infikují a vedou většinou ke chronicky probíhajícím vředům.

Popáleniny často infikuje *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* aj.

Poranění však **nemusí být patrné** a až infekce podkožních tkání se může projevit např. jako šířící se proces zvaný cellulitis. Typickým původcem je *Streptococcus pyogenes*, vzácněji *Staphylococcus aureus*, někdy klostridia nebo anaerobní.

Vždy se může rozvinout infekce ran vzniklých **pokousáním**. Po kousnutí člověkem bývají rány infikovány příslušníky normální ústní mikroflóry, aerobními i anaerobními, a *S. aureus*. Hnisání ran po kousnutí psem nebo kočkou vyvolává kromě *S. aureus* a anaerobů *Pasteurella multocida*, aj. Po pokousání zvířetem je třeba vždy počítat s možností přenosu vztekliny. Nelze-li u zvířete nákazu spolehlivě vyloučit, je nutno pokousaného chránit. K profylaxi vztekliny kromě chirurgického ošetření s desinfekcí rány patří očkování, případně dle situace doplněné podáním protivzteklinového séra.

Po **kontakt s nakaženým zvířetem** bez kousnutí lze počítat např. s tularémií (*Francisella tularensis*; kožní forma v podobě vředu nebo alespoň hnisavé lymfadenitidy), s nemocí z kočičího škrábnutí (vyvolanou *Bartonella henselae*), příp. s červenkou (*Erysipelothrix rhusiopathiae*).

Zcela **mimořádně po návratu z ciziny** je třeba u akutních hnisavých lymfadenitid diferenciatně diagnosticky vyloučit např. mor (*Yersinia pestis*), vozňivku (*Burkholderia mallei*) a melioidózu (*Burkholderia pseudomallei*). Naproti tomu chronické hnisavé lymfadenitidy se často vyskytují u nemocných s poruchami imunity a vyvolávají je mykobakteria, aktinomycety a nokardie.

K řádnému laboratornímu zpracování všech vzorků z ran a z hnisavých afekcí a k interpretaci mikrobiologických nálezů je tedy nezbytná znalost epidemiologických a klinických údajů.

11.1.2 Odběr vzorků z ran

11.1.2.1 Výtěr z rány

Nejběžnějším vzorkem odebíraným u hnisavých afekcí je stěr z rány či abscesu na odběrovém tamponu. Rozhodně to však není nejlepší vzorek – pokud je to možné, je lepší zaslat tekutý hnis. Když už se stěr z rány provádí, musí být odebrán z hlubších vrstev na periferii rány a zanořen do transportní půdy, jinak během dopravy do laboratoře materiál na tamponu vysychá a hynou

v něm anaeroby. Stěr zaslaný v transportní půdě se obvykle nehodí k přípravě mikroskopického preparátu, čímž přicházíme o rychlou a důležitou informaci, jaký typ mikroba se v ráně nalézá, případně v ní převažuje. Proto se doporučuje zaslat stěry dva, jeden zanořený do transportní půdy a určený ke kultivaci, druhý na suchém tamponu, určený k přípravě mikroskopického preparátu. (Nebo místo něj poslat přímo nátěr na sklíčku.)

11.1.2.2 Tekutý hnis

Při odběru materiálu z hnisavého ložiska, abscesu nebo secernující rány je třeba snažit se odebrat injekční stříkačkou hnis, příp. hnisavý sekret jako tekutinu, a to v množství co největším, tj. plnou zkumavku. Šetření objemem vzorku není na místě, laboratoře jsou vybaveny fungující výlevkou. Získáme-li hnisu méně, ale aspoň 1 až 2 ml, stále ho lze bez obav přestříknout do sterilní zkumavky. Ještě menší množství je lépe nechat ve stříkačce s nasazenou jehlou, tu zabodnout do sterilní gumové zátky a stříkačku s hnisem zaslat do laboratoře. Mělo by se to takto provést vždycky, když je podezření na anaerobní infekci. Nejsou-li zřetelné známky hnisání či sekrece (produkce tekutiny), odebírají se kousky tkáně z periferie postiženého místa. Tyto odštěpky tkáně (excize) se v laboratoři zpracovávají podobně jako hnis.

11.1.3 Vlastní laboratorní vyšetření

11.1.3.1 Vyšetření hnisu

Hnis se zhodnotí **makroskopicky** (u anaerobních infekcí odporně páchne, u aktinomykózy obsahuje světlá zrnka), připraví se z něj **mikroskopický preparát** (tenký nátěr spíše tamponem než klíčkou na teplé sklo) k barvení dle Grama a očkuje se na standardní sestavu **bakteriologických půd**. Ta zahrnuje kvalitní krevní agar, selektivně diagnostickou půdu na enterobakterie (většinou Endovu), selektivní půdu pro stafylokoky (např. krevní agar s 10 % NaCl) a pro streptokoky a enterokoky (KA s amikacinem). Někdy je vhodné přidat do sestavy půd ještě čokoládový agar. Většina laboratoří zároveň kultivuje hnis i v bujónu. Rozhodně je však třeba (s výjimkou hnisavých procesů na kůži) vždy provést i **anaerobní kultivaci**, a to na krevním agaru obohaceném suplementy pro růst anaerobů (lze na něm odstínit fakultativně anaerobní bakterie např. amikacinovými disky) a v kvalitním bujónu pro anaeroby.

11.1.3.2 Vyšetření stěrů z ran

Stěry z ran se zpracovávají jen na **standardní sestavě půd** bez anaerobní kultivace. Velmi důležitý je tu KA s amikacinem – zejména v případě dekubitálních vředů je často přítomna enterobakterie dohromady se streptokokem či enterokokem, který by na běžném krevním agaru vůbec nemohl být odhalen.

Zvláštní způsob zpracování je třeba při podezření např. na halofilní vibria, francisely, mykotické mikroorganismy a především na mykobakteria.

11.2 Etiologie a diagnostika infekcí kostí, kloubů a svalů

11.2.1 Záněty kostní dřene - osteomyelitidy

11.2.1.1 Akutní osteomyelitis

Z 90 % případů akutní osteomyelitidy je izolován *Staphylococcus aureus*, ze zbytku pak asi v polovině případů *Streptococcus pyogenes*. Jiní původci (*Streptococcus pneumoniae*) jsou vzácní. U dětí se může jako etiologický činitel uplatnit i *Haemophilus influenzae*, vzácně i např. salmonely či escherichie. U nemocných s postižením imunity lze očekávat i oportunní plísňe, či pseudomonády.

K vyšetření u akutní osteomyelitidy je třeba zaslat hnisavý aspirát z léze a krev na hemokulturu. Standardní bakteriologické vyšetření stačí, u dětí je možno použít ještě speciální půdu na hemofily. Anaeroby z akutních osteomyelitid prakticky nikdy izolovány nebývají (s výjimkou osteomyelitidy po úraze dolní čelisti, kdy se vypěstuje *Actinomyces israelii*).

Léčba se zahajuje podle výsledků Gramova barvení, resp. empiricky zaměřená proti *Staphylococcus aureus*.

11.2.1.2 Chronická osteomyelitis

se obvykle projevuje píštělí, kterou odtéká sekret z chorobného ložiska. Stěry z píštěle, ač se odebírají běžně, mají jen omezenou diagnostickou cenu. Kultivovat je třeba hnis nebo granulační tkáň z místa infekce v kosti. Na rozdíl od akutních případů hemokultury nejsou pozitivní.

Struktura původců chronických osteomyelitid se postupně mění. Ubývá případů vyvolaných *Staphylococcus aureus* a přibývá gramnegativních tyčinek (pseudomonád, enterobakterií) a anaerobů. Tyto změny odrážejí vzrůstající počet nozokomiálních infekcí po úrazech řešených otevřenou chirurgickou intervencí nebo vnitřní fixací fraktur. Při plicní tuberkulóze není vzácností proces v kosti vyvolaný *Mycobacterium tuberculosis*. Vede ke vzniku hrbu po zhroucení hrudních obratlů nebo ke vzniku paravertebrálních, tzv. sběhlých či "studených" abscesů.

Diagnostika se provádí standardním způsobem včetně anaerobní kultivace a případně kultivace na tuberkulózu.

Antibiotická **léčba** k likvidaci infekčního ložiska nestačí, chirurgické řešení je nezbytné.

11.2.2 Záněty kloubů – artritidy

Hnisavé (septické) artritidy dospělých **vyvolává** nejčastěji *Staphylococcus aureus*, u novorozenců kromě toho i *Streptococcus agalactiae* a gramnegativní bakterie. Významná je např. *Yersinia enterocolitica*. U malých dětí je na prvním místě *Haemophilus influenzae*. U mladých dospělých je druhou nejdůležitější příčinou *Neisseria gonorrhoeae* (hnisavé monoartikulární artritidy velkých kloubů).

Poněkud odlišná je situace u infikovaných kloubních náhrad, kde nalzáme hlavně příslušníky kožní mikroflóry. Na prvním místě stojí koagulázanegativní stafylokoky, následuje *Staphylococcus aureus* a korynebakteria.

Nehnisavé artritidy jsou běžné během mnoha virových infekcí a v rekonvalescenci po nich (parainfekční a postinfekční artritidy), jakož i po očkování.

V diagnostice septických artritid se používá kloubní punktát a hemokultura, u implantovaných náhrad kloubní tekutina a granulační tkáň. Kromě standardního zpracování se zakládá i anaerobní kultivace a kultivace na čokoládovém agaru ve zvýšené tenzi CO₂.

Kromě parenterální antibiotické **léčby** ve vyšších dávkách je u septických artritid nutné odstraňovat kloubní tekutinu opakovanou aspirací nebo otevřenou drenáží.

11.2.3 Záněty svalů – myositidy

Svalové bolesti (myalgie) při chřipce a jiných virózách jsou spíše než přímým vlivem viru vyvolány zvýšeným katabolismem svalových bílkovin. Katabolismus je zprostředkován řadou cytokinů, zejména IL-1 a faktorem nekrotizujícím nádory.

11.2.3.1 Bakteriální infekce svalů

jsou poměrně vzácné. Nejzávažnější jsou klostridiové myonekrózy vyvíjející se ze zhmožděných poranění svalů kontaminovaných spory půdních klostridií. Nejznámější je plynatá sněť vyvolaná nejčastěji *Clostridium perfringens*. Etiologie gangrény může být i polymikrobiální, jako synergická gangréna se někdy označuje stav, kdy se z postiženého svalu vypěstuje směs anaerobů a enterobakterií. Dramaticky může probíhat myositis vyvolaná invazivním kmenem *Streptococcus pyogenes* (novináři s oblibou nazývaným „masožravý streptokok“).

Generalizovaná, těžká (i smrtelná) myositida může být vyvolána masivní infestací svalovce stočeného – *Trichinella spiralis* – po požití nedostatečně tepelně upraveného masa černé zvěře. U klostridiových snětí i streptokokových myositud je třeba odebrat excizi z okraje šířícího se procesu a vyšetřit ji mikroskopicky, standardní kultivací a anaerobně.

Chirurgické řešení je nezbytné, antibiotika nestačí. U anaerobních procesů zachraňuje život tzv. hyperbarická komora. Antigangrenózní sérum má význam spíše jen profylaktický, nikoli terapeutický.

11.3 Anaerobní infekce – původci, transport materiálu, zásady diagnostiky

Striktní anaeroby nesnášejí kyslík (některé hynou i v přítomnosti jeho velmi nízkých koncentrací). Infekce jimi způsobené mají oproti jiným poněkud odlišné charakteristiky z hlediska vzniku, průběhu i léčby.

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.

Naproti tomu **sporulující anaeroby** – klostridia – se díky sporám mohou šířit mnohem snáz.

11.3.1 Nesporulující anaeroby

11.3.1.1 Rozdělení a význam nesporulujících anaerobů

Infekce způsobené nesporulujícími anaeroby jsou téměř vždy smíšené, účastní se mnoho různých druhů anaerobů, případně i ve směsi s fakultativními anaeroby. Nejčastěji jsou postiženy tkáně, které leží v okolí orgánů, kde se anaeroby vyskytují fyziologicky. Z dutiny ústní se mohou anaeroby např. při zubním kazu, úrazu apod. dostat do měkkých tkání v okolí čelisti či krku.

Střevní anaeroby při perforaci způsobují peritonitidu, poševní pak záněty malé pánve.

Nedá se říci, že by nesporulujícími anaeroby byl nějaký zvlášť významný. Jejich patogenita je velmi podobná; vyšší je však přece jen u aktinomycet, naopak nižší např. u bifidobakterií.

G + tyčinky: *Actinomyces* – způsobuje aktinomykózu. *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*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* (podílí se na tzv. Plaut-Vincentově angíně). *Mobiluncus* - účastní se nespecifických zánětů pochvy, označovaných jako "vaginózy". Dříve byl označován jako "poševní vibrio".

G+ koky: *Peptococcus* a *Peptostreptococcus*

G- koky: *Veillonella*

11.3.1.2 Diagnostika nesporulujících anaerobů

Mikroskopie je velice užitečná - mnohé anaeroby jsou různotvaré. **Kultivace:** anaerobní kultivace, viz dále. Využívá se **biochemická identifikace**.

11.3.1.3 Léčba infekcí způsobovaných nesporulujícími anaeroby

Používá se hlavně klindamycin, penicilin (jde-li o citlivý druh) nebo metronidazol, často v kombinaci s dalším antibiotikem, které pokryje doprovodnou fakultativně anaerobní flóru.

11.3.2 Rod *Clostridium*

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 zeminou apod. se mohou spory dostat do těla. V některých případech lze ale vysledovat fekálně-orální cestu přenosu, anebo vůbec nejde k infekci, nýbrž k bakteriální intoxikaci (člověk se nenakazí, jen zkonsumuje toxin).

11.3.2.1 Rozdělení a význam klostridií

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, který 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 - požívá linkosamidová antibiotika, vybijí všechnu běžnou flóru kromě *Clostridium difficile* (to je jako jeden z mála anaerobů rezistentní).

11.3.2.2 Diagnostika klostridiových infekcí

Mikroskopie prokáže dlouhé a tlusté tyčinky. Spóry mohou a nemusí být viditelné - některá klostridia tvoří spory jen tehdy, když se dostanou do nepříznivých podmínek. - Umístění spory na konci ("palička na buben") je typické pro *Clostridium tetani*. **Kultivace** je anaerobní. 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** se také používá. **Pokus na zvířeti** připadá stále ještě v úvahu u tetanu a botulismu. **Průkaz antigenu** se používá hlavně jako průkaz toxinů *C. perfringens* a *C. difficile* ve stolici. Je totiž u nich důležitější než samotný nález klostridia: klostridia se totiž vyskytují běžně, ale ne vždy produkují toxin.

11.3.2.3 Léčba a prevence klostridiových infekcí

U **tetanu a botulismu** se v léčbě a profylaxi používá především pasivní imunizace specifickým antitoxinem. U **tetanu** se provádí prevence očkováním - v dětství jako součást kombinace, 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 metronidazol, případně také vankomycin. Ten je k dispozici jen v injekčních ampulích, ale v tomto případě se dá pacientovi ampule vypít. Vankomycin se nevstřebává a působí ve střevě místně.

11.3.3 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. I tak ovšem anaerostat ani běžné anaerobní boxy neumožňují růst EOS, které vyžadují speciální vybavení, jimiž většina laboratoří nedisponuje.

11.3.3.1 Anaerostat

Je to nádoba, která má těsně přiléhavé víko. Před použitím si nachystáme *sáček se speciální směsí chemikálií*. a do anaerostatu vložíme (pokud už tam není) *paladiový katalyzátor*. Když se do anaerostatu umístí naočkované misky, sáček se směsí se otevře, u některých typů se ještě zalije vodou. Tím začne běžet dvoufázová reakce. V první fázi vzniká směs vodíku a oxidu uhličitého, ve druhé na katalyzátoru je spotřebován kyslík.

Pokud do anaerostatu nedáme katalyzátor, proběhne jen první fáze reakce. Atmosféra takto vzniklá obsahuje kyslík, ale také zvýšené množství oxidu uhličitého. Používá se ke kultivaci kapnofilních bakterií, např. kampakobakterů (viz infekce gastrointestinálního traktu).

11.3.3.2 Anaerobní box

Je to modernější způsob kultivace. Je to velká prosklená bedna, do které je anaerobní směs vháněna z bomby. Můžeme v ní pracovat pomocí dvou otvorů v přední stěně, které jsou uzavřeny vzduchotěsnými uzávěry a na kterých jsou připevněny gumové rukávy. Pracovník tudíž prostrčí ruce, aniž by anaerobní směs unikala ven. To, co přece unikne, se zase doplní z bomby. V ideálním případě (má-li laboratoř k dispozici dostatečně velký anaerobní box) probíhá v boxu jak očkování vzorků na kultivační půdy, jak i veškeré další diagnostické procedury. Laboratoře, které si nechtějí pořizovat anaerobní box, ale chtějí také využít fyzikální způsob vytvoření anaerobiózy, si také mohou pořídit zařízení, kterým je směs anaerobních plynů vháněna do speciálního sáčku s Petriho miskami či jiným materiálem. Po naplnění se sáček zataví a kultivace probíhá v něm.

11.3.3.3 Odběr a transport materiálu na anaerobní kultivaci

Musí být také speciální. Pokud nemáme k dispozici speciální zkumavky, kde je vzduch nahrazen oxidem uhličitým, zasíláme materiál (např. hnis) přímo ve stříkačce s jehlou zabodnutou do gumové zátky. U výtěrů naproti tomu stačí běžná souprava s Amiesovou půdou. Ovšem tekutý materiál je vždy cennější pro diagnostiku než pouhý výtěr.

Téma 12 Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky

12.1 Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu

Při odběru a transportu infekčního materiálu je potřeba dbát určitých pravidel, aby vyšetření mělo co největší smysl. Špatně provedený odběr či transport materiálu představuje zbytečné trápení pacienta a zbytečně vyhozené prostředky na vyšetření. Proto je nutno nepodceňovat tuto problematiku.

12.1.1 Indikace mikrobiologického vyšetření.

Často se provádí mikrobiologické vyšetření zbytečně, a naopak, že se neprovede tam, kde by bylo účelné. Při úvaze o mikrobiologickém vyšetření (stejně jako třeba vyšetření biochemickém) by se měl lékař zamyslet nad tím, jak bude postupovat v případě různých výsledků vyšetření. Dojde-li k závěru, že bez ohledu na výsledek bude léčit pacienta stejným způsobem, je vyšetření pravděpodobně zbytečné.

V některých případech si musí klinik ujasnit nejen **zda** se rozhodne pro vyšetření, ale také **pro jaké konkrétní vyšetření**. To se týká hlavně serologických a virologických vyšetření (protilátky proti kterému mikrobovi?), ale často také bakteriologických vyšetření (například požadavek anaerobní kultivace, vyšetření na TBC, popřípadě současného vyšetření bakteriologického a mykologického).

Vedle indikací ze strany pacienta existují také **indikace ze strany populace**, to jest indikace epidemiologické. Příkladem je průkaz viru chřipky (přímý či nepřímý). Pro léčbu daného pacienta je jeho význam pochybný, zato je cílem je příprava co nejkvalitnější vakcíny pro další rok; jinak řečeno, i tady jde nakonec o zdraví lidí.

12.1.2 Odběr vzorku

Problém má několik částí:

12.1.2.1 Volba vhodného vzorku

Příklady:

- u infekcí DCD není vhodný výtěr z krku, daleko lepší je vzorek sputa (ne sliny)
- nevhodný je roztok borové vody u výplachu dutin, neumožňuje přežití patogenů

12.1.2.2 Správné načasování:

- odebrat vzorek před zahájením antibiotické léčby
- u serologických vyšetření je nutno provést nejméně dva odběry, druhý za dva až tři týdny
- u některých parazitóz je vhodné načasování prodiskutovat s mikrobiologem

12.1.2.3 Správné provedení odběru

Tady bývá často zakopaný pes neúspěchu vyšetření - například

- jestliže se odebere moč nesterilně, zachytí se místo patogenů kontaminanta
- jestliže je odebrán výtěr z kořene jazyka namísto z tonzil, je výsledek značně zkreslený.

12.1.2.4 Použití správné odběrové soupravy

Je podrobně popsáno ve zvláštní kapitole

Nelze omlouvat vzorek odebraný non lege artis snahou "šetřit pacienta", protože nesprávný odběr může často znamenat nesprávný výsledek, tím i nesprávné léčení a mnohem větší loss pro pacienta než důkladné provedení odběru.

12.1.3 Vyplnění průvodky.

Správné vyplnění průvodky je uvedeno ve zvláštní kapitole.

12.1.4 Zaslání materiálu do laboratoře

- materiál je vždy třeba dopravit do laboratoře co nejdříve
- u močí ještě více než u ostatních – nutno do dvou hodin, jinak hrozí pomnožení kontaminant
- nelze-li materiál dodat ihned, uchovat s tím, že citlivé mikroby nemusí být zachyceny
- když už se materiál uchovává, je zpravidla je lepší nechat vzorek při pokojové teplotě na místě chráněném před sluncem, než uchovávat jej v chladničce; důvodem je tepelný šok, který může citlivější organismy postihnout.
- u virologických materiálů, jak již bylo řečeno, je vhodný transport na tajícím ledu

12.1.5 Vlastní zpracování materiálu v laboratoři

I tuto fázi může klinické pracoviště ovlivnit, např.:

- dohodnout s mikrobiologem některé detaily zpracování
- telefonicky zjistit předběžné výsledky vyšetření (celé vyšetření trvá v případě bakteriologie zpravidla dva až sedm dní, předběžný výsledek ovšem může být k dispozici už za 24 h)

12.1.6 Zaslání výsledku

- zorganizovat tak, aby nedocházelo ke zbytečným prodlevám
- dnes zpravidla možnost využít zaslání vzorků elektronicky (v rámci zdravotnického zařízení i mezi zařízeními navzájem)
- dohodnout s mikrobiologem, zda má být zaslán až konečný výsledek nebo i mezivýsledek
- dohodnout, kam má být výsledek poslán, je-li při odběru známo, že bude pacient přeložen

12.1.7 Interpretace výsledku a použití při terapii

- laboratoř zpravidla odfiltruje zcela evidentní kontaminanty z prostředí a náhodné nálezy
- v méně jednoznačných případech ovšem konečné rozhodnutí leží na klinickém pracovišti
- vodítkem může být poznámka ke kvantitě („ojediněle“, „masivně“), nesmí se ale přecenit
- u vzorků z dutin normálně osídlených běžnou flórou je nezbytné chápat ekosystém mikrobů jako celek, nemoc je často porušením rovnováhy mezi mikroby a léčba antibiotiky nemusí být nutná
- interpretace serologických vyšetření: samotná přítomnost protilátek není zpravidla významná, důležitější je titer a zejména jeho dynamika.

Obecně je třeba upozornit, že není nejlepší laboratoř, která má hodně pozitivních nálezů, ale taková laboratoř, která dokáže odlišit skutečnou pozitivitu od náhodné kontaminace. Léčit neexistující infekci je totiž jen o málo menší chyba než neléčit infekci existující, a to z mnoha důvodů, narušením přirozené mikroflóry pacienta počínaje a zvyšováním rezistence mezi populací mikroorganismů konče.

12.1.8 Průběžná spolupráce mezi klinickým pracovištěm a laboratoří

Může mít nejrůznější formy, od občasných konzultací až po součinnost při výzkumné práci. Je oboustranně užitečná. Klinikovi pomáhá při rozhodování, mikrobiologovi zase dává konkrétnější představu o pacientech, jejichž vzorky mu procházejí rukama.

12.2 Přehled základních odběrových souprav a nádobek

Pro **nepřímý průkaz** používáme prakticky vždy zkumavku na sérum, neboť vzorkem je v tomto případě vždy srážlivá krev.

Pro **přímý průkaz** naopak můžeme použít nejrůznější typy odběrů. Zpravidla se jedná buďto o různé typy odběrových souprav („výtěrovek“) pro výtěry a stěry, nebo o různé nádobky, ve kterých se posílají tekuté a kusové materiály (moč, hnis, exsudát, mozkomíšní mok apod.)

Přednost má zpravidla zaslání tekutého/kusového materiálu před pouhým zasláním stěru/výtěru. Existují ale i četné výjimky: v bakteriologii se zpravidla používá výtěr z řitního kanálu namísto kusové stolice (i když zaslání kusové stolice v zásadě není chyba), stěr z urethry je u kapavky doporučován spíše než zaslání vzorku moče, apod.

12.2.1 Zásady pro použití odběrových souprav („výtěrovek“)

(v případě výtěrů a stěrů)

- **suchý tampon je zpravidla nevhodný**, s výjimkou PCR a některých průkazů virových antigenů
- používá se **transportních půd**, univerzální (pro bakteriologii) je půda Amiesova.
- pro **mykologii** se doporučuje souprava FungiQuick, zvláštní soupravy se používají také u **izolace virů a chlamydií**
- u **poševních a urethrálních výtěrů** je nejlepší kombinace Amies + C. A. T., kde Amies je na bakterie a C. A. T. na kvasinky a trichomonády

12.2.2 Zásady pro použití odběrových nádobek

(v případě tekutých a kusových materiálů)

- ve většině případů **nezáleží na typu nádobky**, ale jen na tom, aby nádobka byla sterilní
- je ovšem nutno respektovat požadavek případný požadavek na označení z důvodu usnadnění třídění vzorků
- nesterilní nádobky jsou přípustné jen u parazitologického vyšetření stolice
- u materiálů, kde je nutné též **anaerobní vyšetření**, je ideální zaslání **přímo v injekční stříkačce bez vzduchu** s jehlou zabodnutou do sterilní zátky
- u **hemokultur** se dnes používají speciální transportně-kultivační lahvičky pro automatickou kultivaci; lze je použít i pro některá další vyšetření
- u **dermatomykóz** se zasílají nehty, vlasy, šupiny a podobně
- u **izolace virů** nutno nádobku vložit do systému udržujícího teplotu kolem 0 °C

12.2.3 Jednotlivé typy odběrových souprav a nádobek

Souprava s bakteriologickou transportní půdou (nejčastěji Amiesovou) je základem všeho. Hodí se prakticky k jakémukoli bakteriologickému kultivačnímu vyšetření, nemáme-li k dispozici tekutý či kusový vzorek. Nejběžnější použití: výtěry z krku, nosu, ústní dutiny, ucha, spojivkového vaku, vaginy, děložního čípku, ústí urethry, předkožkového vaku, řitního kanálu, stěry z kůže, různých typů ran, dekubitů, vředů, abscesů a jiných afekcí.

Suchý tampon jen výjimečně: PCR nebo některé průkazy antigenu, kde nepotřebujeme živého patogena, ale jen jeho antigen či DNA, a transportní půda by byla spíše na škodu.

FungiQuick je souprava na mykologické vyšetření

Soupravy pro viry a pro chlamydie se používají výjimečně (jen pro izolaci agens), u virů a chlamydií totiž výrazně převažuje nepřímý průkaz (zasílání séra) anebo když už přímý průkaz, tak přímá detekce antigenu nebo nukleové kyseliny

C. A. T. je souprava pouze pro gynekologické (popř. andrologické) vyšetření. Transportní půda je zároveň i půdou kultivační. Slouží jen k průkazu kvasinek a trichomonád, pro bakterie se nehodí, proto je zpravidla potřeba poslat kromě C. A. T. i klasický Amies. Souprava je zajímavá tím, že slouží nejen k transportu, ale i ke kultivaci. Po kultivaci přes noc se tekutina prohlíží mikroskopicky jako nativní preparát. Hledají se především trichomonády, ale i kvasinky a jiné mikroby, epitellie, leukocyty, popřípadě spermie.

Zkumavky mohou mít různé rozměry a označení uzávěrů. Širší samostojací zkumavce říkáme **sputovka**, ale zdaleka nemusí sloužit jen k zaslání sputa.

Hemokultivační nádobka dnes obsahuje nejen protisrážlivou látku, ale i transportně-kultivační médium. Slouží pro automatickou kultivaci krví. Existují různé typy – pro aerobní či anaerobní kultivaci, některé typy obsahují aktivní uhlí k adsorpci látek toxických pro bakterie. Důležité je zbytečně nekombinovat více typů nádobek. Anaerobní nádobky mají být používány pouze je-li k tomu zvláštní důvod.

Je potřeba rozlišovat mezi odběrem krve na serologii (srážlivá krev, nepřímý průkaz nebo průkaz některých antigenů, např. HBsAg) a odběrem krve na hemokultivaci (nesrážlivá krev, kultivační průkaz živých bakterií a kvasinek)

12.2.4 Jiné typy odběrů než „výtěrovky“ a odběrové nádobky

V některých případech se doporučuje přímo v ordinaci **nátěr na podložní sklíčko** a to poslat. Týká se to zejména případů, kdy je obava, že by patogen nemusel být kultivačně zachycen, takže je užitečné, je-li spatřen alespoň v mikroskopu. Například u kapavky je bohužel velké riziko, že případný patogen navzdory veškeré snaze nepřežije transport. Kultivace nemusí být úspěšná ani u aktinomykomy. – Další zpracování (fixace, barvení) sklíčka si už provede laboratoř. V kožním lékařství se používají **otisky přímo na kultivační půdu**, která je pro tento účel nalita až po okraj Petriho misky (zpravidla se používá menších Petriho misek).

Urikult byl jednu dobu zvláštním způsobem zaslání moče. Moč se přímo na klinickém pracovišti nalila do nádobky s pevnou kultivační půdou a zase vylila. Neposílala se tedy už moč, ale rovnou kultivační půda. Vyšetření mělo zkrátit dobu mezi vymočením pacienta a nasazením na půdu prakticky na nulu. Z různých praktických důvodů se však příliš neujalo.

Rychlé diagnostické soupravy k použití přímo v ordinaci mohou značně urychlit proces nalezení vhodné léčby. Jsou většinou založeny na přímém průkazu antigenu. Vyráběny jsou tak, aby s nimi byla jednoduchá manipulace, dostupná i pro nemikrobiologický personál. Znamená to ovšem zpravidla menší citlivost a vyšší cenu. Při pochybách o výsledku je v každém případě na místě použít klasické zaslání do laboratoře.

12.3 Správně vyplněná průvodka a její význam

Správně vyplněná průvodka je podceňovanou, ale neobvykle důležitou součástí vyšetření. Není-li materiál správně označen, dochází k nedorozumění, není vyšetřeno vše, co má být, nebo je naopak něco vyšetřeno zbytečně. Mikrobiolog nemyslí na tropické patogeny, není-li na průvodce uvedeno příslušné upozornění.

12.3.1 Osobní údaje

Precizní vyplnění **osobních údajů** (jméno, číslo pojištěnce, číslo odesílajícího zařízení, pojišťovna aj.) je velmi důležité. V případě chyb může dojít nejen ke zpoždění platby za vyšetření, ale může se také stát, že výsledek je omylem zaslán na jiné oddělení nebo přiřazen k jinému pacientovi.

12.3.2 Přesný popis materiálu a požadovaného vyšetření

12.3.2.1 Příklady častých chyb:

- označeno pouze „výtěr“, aniž by bylo zřejmé, zda se jedná o výtěr z krku, pochvy či odjinud; přitom v laboratoři se každý typ materiálu zpracovává poněkud odlišně
- ani označení „stěr z rány“ nestačí (je rozdíl, jde-li o ránu operační, traumatickou, zhnisanou, zda je lokalizována na bříše, na končetině či třeba perianálně).
- u „katetrizované moče“ rozlišit katetrizaci kvůli odběru (citlivější než moč běžně odebraná) od moče z permanentního katetru (naopak vyšší pravděpodobnost kontaminace)
- není uvedeno, zda je požadováno např. anaerobní vyšetření apod.
- je požadováno vyšetření, které nelze provést (např. serologické vyšetření TBC)

12.3.3 Diagnóza

Naprostě nezbytné je vyplnění skutečné diagnózy. Na průvodce není „jen tak pro pojišťovnu“. Mikrobiologovi může hodně napovědět, urychlit či zpřesnit diagnostiku, ovlivnit volbu, na která antibiotika bude testována citlivost případného patogena apod. Má-li pacient více diagnóz, je třeba uvést tu, která má vztah k předpokládané infekci (což nemusí být pacientova „hlavní“ diagnóza“), popřípadě zmínit všechny.

O tom, že správnému vypsání diagnózy často pohříchu není věnována dostatečná pozornost, svědčí občasné požadavky na vyšetření vzorku od pacientky s hyperplazií prostaty či pacienta s rizikovým těhotenstvím.

12.3.4 Další údaje

- uvést, zda jde o akutní či déletrvající stav či kontrolu po léčbě
- upozornit na komplikovaný zdravotní stav pacienta
- uvést stávající nebo uvažovanou antibiotickou terapii, případně i alergii na antibiotika
- cestovatelská anamnéza – návrat z tropů (která oblast, případný známý kontakt s exotickým patogenem)
- pracovní anamnéza: práce v zemědělství, v lese, v kanalizaci apod.
- u serologických vyšetření datum prvních příznaků a zda se jedná o první či druhý vzorek
- u gynekologických materiálů není od věci uvést fázi menstruačního cyklu či upozornit na to, že jde o gravidní pacientku (např. pro výběr testovaných antibiotik)

V případě mimořádných vzorků nebo jakýchkoli pochyb je vždy dobré upozornit laboratoř i telefonicky, případně se dohodnout, co na průvodku vypsát (a zároveň také, jak odebrat vzorek)

Téma 13 Základy klinické mykologie a parazitologie

13.1 Původci mykóz, vyšetřovací metody v mykologii

13.1.1 Houby obecně

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.

13.1.1.1 Přenos hub

Přenos hub může být různý, většinou se ovšem snadno přenášejí vzduchem ve formě spor a konidií.

13.1.1.2 Význam hub

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)
- **mycelismy** (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:

Povrchové mykózy (kožní a slizniční – zejména rody *Trichophyton*, *Epidemrophyton*) a **podkožní mykózy** (*Sporothrix*)

Orgánové mykózy (*Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*),

Kandidózy mají zvláštní postavení

13.1.1.3 Diagnostika mykotických onemocnění

Mikroskopie. Houby jsou asi desetkrát větší než bakterie, proto jsou dobře viditelné i v **nativním preparátu**. Tužší vzorky (nehty apod.) se musí rozvolnit louhem, což zároveň zvýrazní kontury houbových vláken. Někdy se ke zvýraznění používá také **Parkerův inkoust**. Houby (zejména kvasinky) se však také dají zpravidla dobře barvit i **podle Grama**. Barví se modře, přestože jejich buněčná stěna nemá nic společného s buněčnou stěnou grampozitivních bakterií.

Kultivace. Základem je Sabouraudův agar. Většinou se nalévá jako šikmý agar do zkumavek, takže i při dlouhodobé kultivaci (vláknitých hub) půda nevyschne.

Biochemická identifikace využívá podobných typů testů jako při diagnostice bakterií

Nepřímý průkaz má význam u systémových mykóz, např. aspergilózy.

Testování in vitro citlivosti na antimykotika připadá v úvahu u kvasinek, nikoli u vláknitých hub. Difusní diskový test se dělává, ale není spolehlivý. Spolehlivější je např. tzv. FUNGItest.

13.1.1.4 Léčba mykotických onemocnění

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 - amfotericin B v intralipidu.

Azolová antimykotika, jako je itraconazol (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 (flucytosin) je moderní rezervní antibiotikum, velmi drahé, hodí se pro léčbu v kombinacích.

Capsfungin (CANCIDAS) je nové antimykotikum z jiné skupiny než předchozí. Zatím na něj nebývají rezistence.

13.1.2 Původci kožních mykóz

jsou houbové organismy, způsobující onemocnění kůže, popřípadě sliznic. Zvlášť je probrán rod *Candida* - kandidy mohou vyvolat jak povrchové, tak hluboké mykózy.

13.1.2.1 Význam kožních mykóz

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.

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.

13.1.2.2 Diagnostika kožních mykóz

Mikroskopie (obvykle v nativním preparátu). Dále se užívá **kultivace** na Sabouraudově agaru.

13.1.2.3 Léčba kožních mykóz

K léčbě kožních mykóz se hodí griseofulvin (Gricin) a terbinafin (Lamisil). Opomíjený, ale dobře účinný je jodid draselný.

13.1.3 Rod *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.

13.1.3.1 Význam rodu *Candida*

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.

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.

13.1.3.2 Diagnostika u rodu *Candida*

Mikroskopicky v nativním nebo barveném (Gram) preparátu vidíme eliptické buňky, někdy pučící, nebo jejich řetězky až vlákna. **Kultivace** na krevním nebo Sabouraudově agaru. SA. Od kolonií *Staphylococcus epidermidis* nebo *Corynebacterium* sp. se odliší někdy kvasnicovou vůní, ale někdy teprve nátěrem. K rozlišení všech kandid lze použít **biochemické vlastnosti**. **Průkaz antigenů a profilátek** se provádí u těžkých forem a sepsí (precipitace, aglutinace)

13.1.3.3 Léčba u rodu *Candida*

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 (mikonazol, ketokonazol, novější flukonazol, itrakonazol a vorikonazol).

13.1.4 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*)

13.1.4.1 Význam a rozdělení původců systémových mykóz

Aspergillus (plíseň štětičková) je velmi běžný v prostředí. Může jednak produkovat jedy (afatoxiny), 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.

13.1.4.2 Přenos

zpravidla vzduchem, zdrojem může být prach, zvířecí trus apod.; u aspergilů a *Mucorales* jsou spory všudypřítomné.

13.1.4.3 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).

13.1.4.4 Léčba

antimykotika k celkové léčbě (viz *Candida*)

13.2 Paraziti a jejich vyšetřování

(Zahrnuje dvě zkušební otázky: „Střevní paraziti a jejich vyšetřování“ a „Paraziti a jejich diagnostika – kromě střevních“)

Paraziti jsou mikrobiální patogeny živočišného původu. Někteří paraziti nesplňují definici mikroba (jsou pozorovatelní pouhým okem), ale z praktických důvodů se zařazují do mikrobiologie.

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 muňka

Vnitřní parazity lze členit nejen systematicky, ale také podle orgánů, které napadají:

- **střevní paraziti** – nejčastější (giardie/lamblie, entaméby, škrkavky, roupi, tasemnice apod.)
- **urogenitální paraziti** – například trichomonády
- **krevní paraziti** – například malarická plasmodia
- **tkáňoví paraziti** – například toxoplasma

Paraziti vydrží zpravidla méně než bakterie, zato se mohou často aktivně cíleně pohybovat (skrz kůži, napříč naším tělem). Přenos je nejčastěji fekálně-orální, kontakt apod.

13.2.1 Diagnostika parazitárních onemocnění

Nejčastěji mikroskopická (průkaz prvoků, vajíček červů), méně často kultivační (např. *Trichomonas*) či nepřímá (serologická – hlavně u tkáňových parazitóz, kupříkladu u toxoplasmózy). Bývají též zvýšené protilátky třídy IgE. Z mikroskopických metod se u střevních parazitů (hlavně červů) používá zejména

- Faustova koncentrační metoda (několikastupňové odstředění)
- Tlustý nátěr podle Kato (pouze jedno odstředění)
- Grahamova metoda - speciálně pro roupy (speciální lepicí páska)
- Barvicí metody (nejčastěji tzv. Gomoriho trichrom)

13.2.2 Léčba parazitóz

Bohužel, ne u všech parazitóz známe adekvátní léčbu. Až na výjimky se používají speciální léky, které neúčinkují na jiné mikroby (bakterie, plísně).

13.2.3 Prvoci

Jako jednobuněčné organismy mají přece jen blíže bakteriím než červi. Někteří způsobují velmi závažné choroby

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 průjemové onemocnění, celosvětově velmi časté. Ve vyspělých zemích je častost menší, ale o to horší bývají příznaky.

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 tudíž se dostává do nejrůznějších orgánů těla.

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.

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 hrají roli i potraviny (zejména špatně tepelně opracované maso). 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" Malárie postihuje erythrocyty. Projevuje se bolestmi hlavy a svalů, nevolností, později

mražením, třesavkou, horečkou a pocením. Záchvaty se pravidelně opakují po týdny až měsíce, zpravidla postupně slábnou. Komplikace jsou časté hlavně u tropické malárie.

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.

13.2.4 Motolice

jsou ploší „červí“ měřící několik mm až cm. Mají přísavky, někdy i trny. Na rozdíl od tasemnic se vyskytují po celém těle.

Schistosomy. Způsobují schistosomózy - dříve bilharziózy v subtropích a tropech..

Jaterní, plicní a střevní motolice. Člověk se nakazí od mezihostitele, což může být vodní rostlina, ryba, krab apod. Příznaky velmi různé (horečky, žloutenky, postižení CNS a různé jiné). - Dg. motolic: mikroskopická. Léčba: praziquantel.

13.2.5 Tasemnice

mohou být mnohem větší než motolice, ne ale všechny.

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 anémie (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..

Diagnostika: mikroskopie, u měchožila serologie; léčba: praziquantel, niklosamid, u měchožila mebendazol.

13.2.6 Hlístice

Na rozdíl od „červů“ plochých (se kterými nejsou vůbec příbuzní) mají kruhový průřez. Nejsou článkovaní, mají oddělená pohlaví a mají ústa a střevo (na rozdíl od plochých červů, kteří přijímají potravu celým tělem).

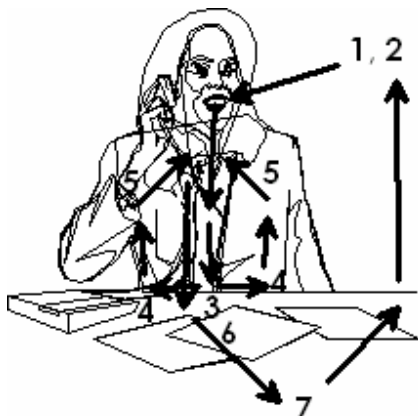
Háďátko střevní - *Strongyloides stercoralis* - v ČR vyskytuje ojediněle. Larva migruje tělem, proto příznaky od kožních přes plicní až po trávicí a jiné. Diagnostika mikroskopii a ELISou.

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 sklíčko. 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



požření 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. poškození 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.

Léčba nálezů vyvolaných oblovců. Nejdůležitější jsou benzimidazolové preparáty - mebendazol, thiabendazol, levamisol. Na roupky se používá Pyrinium, na škrkavky vedle benzimidazolů také piperazin.

13.2.7 Ektoparaziti - členovci

Členovci vlastně nepatří do mikrobiologie, protože jsou pozorovatelní pouhým okem nebo lupou. Z praktických důvodů jsou ale do učebnic zařazováni.

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 projevuje 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 štípnutí 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 svrastělé 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.

Samečka podzimní - *Neotrombicula autumnalis*. Není závažná, vyskytuje se na podzim. Působí začerváním a svěděním. Po 2 - 3 dnech odpadne. Léčba nebývá nutná.

Trudníci - *Demodex*. Drobní roztoci (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 útlucích bezdomovců apod. Veš muňka (lidově filčka) 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.

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 myiáz

Blechy - *Siphonaptera*. Blechy se významně uplatnily při morových epidemiích. Kromě typického lidského druhu *Pulex irritans* napadají někdy člověka i zvířecí druhy.

13.2.8 Kroužkovci

Ke kroužkovcům patří např. žížaly. Parazitem je pijavka lékařská (*Hirudo medicinalis*), která se dříve používala k "pouštění žilou". Dnes je velmi vzácná. Lékařský zájem k použití pijavek se nyní vrací. Moderní medicínu zajímá hirudin – látka s antikoagulačním účinkem.

Určeno pro interní potřebu studentů ošetřovatelství ve školním roce 2005/2006. Další šíření je možné jen se souhlasem autora.

V textu je využito pasáží ze skript „M. Votava, P. Ondrovčík: Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie“ a z přednášek prof. Miroslava Votavy, CSc., pro studenty všeobecného lékařství