



Epidemiologie, mikrobiologie a hygiena

Anotace předmětu:

Předmět je koncipován jako tematický teoreticko-praktický celek. Studenti se seznámí s nejdůležitějšími obecnými vlastnostmi mikroorganismů. Předmět poskytne základní strukturu poznatků z bakteriologie, virologie, parazitologie a mykologie. Studenti se seznámí se zásadami bezpečnosti práce na rizikovém pracovišti, získají podrobné znalosti o zásadách správného odběru a zasilání infekčního materiálu, seznámí se s nejdůležitějšími laboratorními mikrobiologickými vyšetřovacími metodami.

Garant předmětu:

MUDr. Blanka Boualay

1 Bezpečnost a ochrana zdraví při práci

V mikrobiologických laboratořích je třeba dodržovat zásady bezpečné práce, protože při nesprávné a neopatrné práci s živými mikroorganismy by mohlo dojít k laboratorní nákaze. V zásadě je nutno řídit se následujícími pokyny:

1. Používat ochranný oděv.
2. Nejíst, nepít, nekouřit, nežvýkat, nedotýkat se rukama sliznic (ústa, oči, nos).
3. Pracovní místa udržovat v pořádku.
4. Infekční materiál zpracovávat vsedě bez zbytečného přenášení.
5. Bakteriologickou kličku vysterilizovat v plameni po každém použití.
6. Petriho misky je vždy nutné pečlivě po ukončení práce zakrýt víčkem.
7. V případě potřísnění infekčním materiálem nebo rozbití zkumavky provést ihned patřičnou dekontaminaci.
8. Jakékoliv poranění, popálení či nehodu ohlásit vedoucímu laboratoře.
9. Při práci s otevřeným ohněm je nutno dbát zásad protipožární bezpečnosti (při barvení preparátů a čištění mikroskopu se používají hořlavá organická rozpouštědla – aceton, alkohol, benzín).
10. Po skončení práce si vždy umýt ruce v dezinfekčním prostředku s mýdlem a důkladně opláchnout pod tekoucí vodou.
11. Z laboratoře nesmí být odnášeny kultury mikroorganismů.

Bezpečnost práce ve virologických laboratořích je nutné dodržovat podle předpisů a zásad v mikrobiologických laboratořích, až na některá specifika, která jsou uvedena dále. Práci ve virologické laboratoři je nutné provádět pouze ve vyhrazených prostorách, které jsou vybaveny UV zářivkami. Před začátkem práce a po jejím ukončení se místnost vyzařuje asi 60 minut ultrafialovým zářením. Veškeré pracovní úkony, při kterých vzniká aerosol, se provádějí v Biohazard – boxu.

Literatura:

- GOPFERTO VÁ, D., JANO VSKÁ, D., DOHNAL, K., MELICHERČÍKOVÁ, V. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie*. Praha: TRITON, 2002. ISBN 80-7254-223-0.
- KNEIFLOVÁ, J. *Dezinfekční přípravky II: schválené k používání v ČR k 30. 6. 2001*. Praha: Kneifl, 2001. ISBN 80-86052-10-9.
- MELICHERČÍKOVÁ, V. *Sterilizace a dezinfekce ve zdravotnictví*. Praha: Grada Publishing, 1998. ISBN 80-7169-442-8.
- MELICHERČÍKOVÁ, V. *Ochranná dezinfekce*. Praha: Sdružení DDD, 2003. ISBN 978-80-02-01884-1.

MELICHERČÍKOVÁ, V., PAŘÍKOVÁ, J., PAVLÍČEK, J., ŠLOSÁREK, M., RUPEŠ, B., KOŽÍŠEK, F. *Seznam dezinfekčních, dezinfekčních a deratizačních přípravků, sterilizačních přístrojů a pomůcek a přípravků pro dezinfekci vody v bazénech*. Praha: AHEM SZÚ, 2002.

1.1 Dezinfekce, antiseptice, aseptice

Vzájemný vztah mezi lidmi a mikroorganismy se vyvíjí celé věky a v posledních letech se hodně zrychluje. Situace se zhoršuje díky objevu nových infekcí a nových původců a také se vracejí starší původci infekcí. Stoupá rezistence bakterií k antibiotikům, a to ještě celou situaci zhoršuje.

Při asanaci ohniska nákazy (prostředí s výskytem zdroje nákazy) se uplatňuje soubor opatření DDD (dezinfekce, dezinfekce, deratizace) k přerušení cest možného přenosu nákazy na další vnímavé jedince.

Dezinfekce a sterilizace – základní pojmy

Odstranění mikroorganismů z prostředí – dekontaminace – může být zabezpečeno různým způsobem a tomu odpovídá též dosažený efekt. Prostý úklid, mytí nebo praní a žehlení snižuje výskyt mikroorganismů až o 90 %. Tím se zvyšuje účinnost následně prováděné dezinfekce a sterilizace.

Dezinfekce chemická nebo fyzikální je definovaná jako ničení či zneškodňování patogenních mikroorganismů na neživých předmětech, ve vnějším prostředí (vzduchu, vodě apod.) a v infekčním materiálu. Cílem dezinfekce je učinit předměty (zevní prostředí) neinfekční. Účinnost dezinfekce je závislá na rezistenci mikroorganismů vůči těmto prostředkům. Dobré dezinficiens by mělo mít - cidní (usmrcojící) účinek na většinu patogenních mikroorganismů.

Antiseptice je zneškodňování patogenních zárodků v prostředí živých tkání - v ranách, na sliznicích a na kůži s použitím antiseptik. Je namířena hlavně proti mikrobům vyvolávajícím hnisání. U antiseptik není striktní požadavek na baktericidní účinek jako u dezinficiencí, stačí bakteriostatické působení, které způsobí zástavu růstu a množení bakterií. Antiseptika musí splňovat požadavek nejedovatosti a dobré snášenlivosti živými tkáněmi.

U antiseptik není nutná dobrá rozpustnost ve vodě.

Aseptice je souhrn opatření vedoucích ke stavu, kde v prostředí je minimum mikroorganismů. Aseptice si klade za cíl zabránit přístupu mikroorganismů k živým tkáním při chirurgických operacích, a to používáním sterilních nástrojů, obvazových látek, šicího materiálu, pryžových rukavic, přípravou operačního pole, dezinfekcí chirurgových rukou, používáním ústenek apod.

Pojem aseptice zahrnuje také laboratorní a výrobní metody, u nichž je snaha zabránit mikrobiální kontaminaci, např. u mikrobiologických laboratorních prací a při výrobě některých léků.

Sterilizace je zničení všech živých mikroorganismů včetně vysoce rezistentních bakteriálních spór fyzikálními nebo chemickými postupy.

1.2 Sterilizace

Sterilizace je zničení všech živých mikroorganismů včetně vysoce rezistentních bakteriálních spór fyzikálními nebo chemickými postupy.

1.2.1 Vlhké teplo

Přerušovaná frakcionovaná sterilizace je sterilizace varem (100 °C) působícím po dobu 30 minut v 18-24 hodinových intervalech 3 dny po sobě. Sterilizovaná látka musí být v mezidobí uložena při pokojové teplotě, aby termorezistentní spóry, které var přežily, mohly vyklíčit. Následující var je pak ničí jako vegetativní formy bakterií.

Tyndalizace se používá ke sterilizaci termolabilních roztoků bílkovin, které koagulují již při teplotě 60 °C. Postup je podobný jako při frakcionované sterilizaci. Roztok se zahřívá ve vodní lázni při teplotě 56-58 °C (resp. 60–80 °C) po 30-60 minut 3 dny po sobě.

Sterilizace nasycenou vodní parou pod tlakem – **Autokláv** – se provádí nejčastěji za přetlaku 100 kPa při teplotě 120 °C po dobu 20-30 minut. Tento způsob sterilizace umožňuje zničit bezpečně všechny formy mikroorganismů.

Autokláv je tlakový sterilizátor opatřený vodoznakem pro stav vody ve vyvíječi páry (pokud není přímo napojen na přívod páry z centrálního zdroje). Dále je vybaven pojistným ventilem, dvěma nanometry (jeden k měření přetlaku páry ve vyvíječi, druhý v pracovním prostoru), odvzdušňovacím ventilem, vodní vývěvou a teploměrem. Dokonalé odvzdušnění pracovního prostoru na začátku sterilizace je předpokladem úspěšného autoklávování (směs páry se vzduchem při 120 °C a 30 minutové expozici nemá spolehlivý sterilizační efekt). V autoklávu lze sterilizovat obvazový materiál, operační prádlo, různé roztoky, kovové lékařské nástroje, pryžový materiál. Při sterilizaci bakteriologických půd je třeba dát pozor na možnost hydrolýzy disacharidů a poškození termolabilních látek. Textilní materiál se ukládá do sterilizačních bubnů. Tyto se vkládají do autoklávu otevřené a po skončení sterilizace se ihned uzavírají (posuvný pás na obvodě bubnu). Materiál uzavřený v bubnu se považuje za sterilní jen 2 dny po sterilizaci. Potom je nutno buben znovu přesterilizovat, i když nebyl otevřen. Vysterilizované textilie musí být před vyjmutím bubnu z autoklávu usušeny ve vakuu zapojením vodní vývěvy.



Obrázek 1 Autokláv

Zdroj: autor

1.2.2 Suché teplo

Suché teplo je méně účinné než pára pod tlakem. Má nižší koeficient vodivosti, a proto sterilizace probíhá při vyšší teplotě a po delší expoziční dobu.

1. Otevřený plamen se používá při žihání bakteriologické kličky, k likvidaci některých předmětů malé hmotnosti a nízké užitné hodnoty, např. kontaminovaných obvazů.
2. Horkovzdušná sterilizace skla, porcelánu, kovů se provádí v horkovzdušných sterilizátorech. Doba vlastní sterilizace se počítá od okamžiku dosažení předepsaných teplot. V přístrojích s nucenou cirkulací vzduchu se sterilizuje obvykle buď při 160 °C 60 minut nebo při 180 °C 20 minut.

Sterilizace filtrací slouží k odstraňování bakterií z tekutin tam, kde jiný způsob dekontaminace je nevhodný. Viry procházejí většinou bakteriálních filtrů.

Podle konstrukce a použitého materiálu dělíme filtry na:

- a) azbestové Seitzovy filtry
- b) skleněné jenské filtry
- c) membránové ultrafiltry

1.2.3 Sterilizace zářením

1. Ultrafialové záření (UV)

Optimální baktericidní účinek je při vlnové délce kolem 254 nm, kdy je záření maximálně absorbováno nukleovými kyselinami. Jako zářiče se používají obvykle germicidní lampy. UV záření slouží ke sterilizaci vzduchu a pracovních ploch přímo vystavených paprskům. Používá se k vyzařování operačních sálů, aseptických boxů, piteven, odběrových místností, v léčebnách TBC apod. Vyzáření nemůže nahradit úklid pomocí dezinfekčních prostředků.

2. Ionizující záření

Je výhodné, protože penetruje, ale nezahřívá sterilizovaný předmět a nemění vlastnosti většiny sterilizovaných látek. Zdrojem gama záření v praxi je obvykle radioaktivní kobalt (^{60}Co). Gama záření se používá k sterilizaci nepoužitého, ale již exspirovaného zdravotnického materiálu (obvazový materiál, plasty). Mezinárodně stanovená sterilizační dávka je 27 kGy.

Chemické prostředky dezinfekce

Specifický účinek chemických látek na mikroorganismy se projevuje v závislosti na jejich koncentraci a době působení (expoziční).

Kritéria kvality dezinfekčních prostředků pro volbu jejich použití:

1. široké spektrum účinku, jen málo látek působí zatím baktericidně, virocidně i fungicidně,
2. při trvalém používání nevzniká rezistence,
3. nejsou toxická,
4. mají rychlý dezinfekční účinek,
5. mají afinitu k mikroorganismům,
6. k dezinfikovanému předmětu jsou inertní,
7. dezinfekční účinek je stálý za různých změn (teplota, vlhkost vzduchu, pH).

Mechanismus účinku:

Antimikrobní látky nejčastěji přímo poškozují strukturu mikroorganismů nebo narušují jejich základní metabolické procesy např. oxidací (sloučeniny chlóru, peroxidy, peroxid kyseliny), redukcí (aldehydy), hydrolýzou (kyseliny, louhy), dehydratací (alkoholy), koagulací bílkovin (alkoholy, fenoly), změnou permeability (detergenční látky).

Oxidační prostředky:

peroxid vodíku, manganistan draselný

Peroxid vodíku je používán jako antiseptikum. V 3 % koncentraci je vhodný k výplachům ran a po zředění také ke kloktání. Manganistan draselný (hypermangan) se používá v 0,1–0,2 % koncentraci jako antiseptikum k omývání nebo mytí rukou, má dezodorační účinek. Při vyšší koncentraci působí keratolyticky.

Sloučeniny halogenů:

chlorové vápno, Chloramin B

K dezinfekci se v lékařské praxi používají také sloučeniny jódu a chlóru. Sloučeniny chlóru jsou netoxické. Všechny halogenové přípravky jsou dobře účinné na bakterie, kvasinky a plísň. Na mykobakteria, bakteriální spóry a viry podle koncentrace jejich účinnost kolísá. Chloramin B (p-benzen-sulfon-chloramid sodný) je bílý, ve vodě dobře rozpustný prášek, který obsahuje 25–30 % aktivního chlóru. Přísady detergentů (Sapon, Jar) zlepšují dezinfekční účinek. Přibližně v 1–3 % slouží k povrchové dezinfekci hladkých ploch a dále k dezinfekci bílého prádla. V koncentraci 0,5 % se používá Chloramin B k dezinfekci rukou po dobu 1 minuty.

Jód a jeho sloučeniny:

jodová tinktura, jodofory, Jodonal B, Jodisol

Výhodou všech těchto sloučenin je, že účinkují velmi dobře na všechny mikroorganismy.

1. Jodová tinktura (jodum 6,5 g, Kalium iodatum 2,5 g, Spiritus vini ad 100 g) funguje jako výborné antiseptikum, dobře penetruje a používá se k ošetření povrchu těla nebo okolí ran (nesmí se používat přímo do rány). U některých jedinců se může vyskytovat alergie na jód a jeho sloučeniny.

2. Jodofory odstraňují nevýhody jódu při zachování jeho velmi dobrých antimikrobních vlastností: rozpustnost jódu ve vodě se zvyšuje vazbou s povrchově aktivními organickými polymery (např. polyvinylpyrolidon, které jako nosiče jódu zvyšují jeho dezinfekční účinek). Jodofory jsou stálé, méně toxické než klasické jodové preparáty, nealergizují, nedráždí a rychle působí. Vyznačují se širokým spektrem účinku na všechny bakterie, viry, plísňe a prvoky. Účinek na bakteriální spóry je nejistý.

Jodisol je antiseptikum vhodné v neředěném stavu k ošetřování drobných poranění, místa vpichu před injekcí nebo dekubitů. Ke kloktání se ředí vodou 1:20. Je účinný i na herpetické viry.

Jodonol B slouží především k povrchové dezinfekci v 0,2–1,5% koncentraci.

K dezinfekci rukou se používá v 0,5 % koncentraci, pro antiseptické účely není přímo určen. Betadine slouží k dezinfekci otevřených ran, sliznic, léčbě bakteriálních a plísňových onemocnění.

Sloučeniny těžkých kovů:

Famosept, Methiolát

Alkoholy:

ethanol, ethylenoxid

Ethanol je účinný v koncentraci 60-70 % - stafylokoky jsou při této koncentraci do 5 minut ničeny. N-propanol se uplatňuje hlavně jako kožní antiseptikum k hygienickému a chirurgickému mytí rukou.

Ethylenoxid je dráždivý plyn a ve směsi se vzduchem je výbušný a k dezinfekci se používá ve směsi s inertním plynem (10 % ethylenoxid a 90 % CO₂). Desinfekce se provádí ve speciálních tlakových komorách při 50-55 °C, za relativní vlhkosti 30-40 % a tlaku 200-600 kPa. Sterilizace trvá 24 hodin a má výrazný baktericidní a sporicidní účinek.

Aldehydy:

formalín, formaldehyd

Fenolové deriváty:

kresoly, Lysol

Povrchově aktivní látky:

Ajatin, Septonex, Ophthalmo – Septonex (tenzidy, kvarterní amoniové sloučeniny)

Porušují osmotickou bariéru a denaturují bílkoviny. Velmi účinné jsou na grampozitivní bakterie, méně účinné jsou na gramnegativní bakterie - zejména *Pseudomonas aeruginosa* a *Proteus* jsou odolné. Na mykobakteria a bakteriální spóry nepůsobí. Účinek na plísňe – mikromycety, na viry influenzy a herpetické viry je vcelku dobrý. Enteroviry jsou odolné vůči těmto dezinfekčním přípravkům.

Nové dezinfekční látky:

V roce 1990 byl objeven Glukoprotamin. Mechanismem účinku je perforace buněčné membrány mikrobů. Je baktericidní, tuberkulocidní, fungicidní a částečně působí na viry. Usmrcuje vajíčka roztočů a zákožky svrabové. Výhodou je, že tento přípravek nedráždí a nealergizuje.

Octendindihydrochlorid se používá k dezinfekci sliznic a kůže. Je baktericidní, fungicidní, působí na viry s reziduálním účinkem a má nízkou toxicitu.

Kontrola účinnosti dezinfekce a sterilizace

Ke kontrole se používá řada testů podle povahy sterilizované látky a způsobu provádění sterilizace nebo dezinfekce, např. papírové indikátory nebo bioindikátory, stěry sterilním vatovým tamponem z míst, kde se předpokládá nedostatečná účinnost dezinfekce. Po odběru se tampon naočkuje na krevní agar a potom se ponoří do bujonu. Druhý den se z bujonu vyočkuje na pevnou půdu ke kontrole sterility.

Moderní metody dezinfekce:

MILTON – je dezinfekční přípravek tzv. moderní studené dezinfekce/sterilizace, která nabízí alternativu k dezinfekci dětských potřeb a produktů pro podporu kojení. Je k výrobkům velmi šetrná, jelikož používá vodu pokojové teploty.

Dezinsekce – je soubor opatření proti členovcům (komárům, vším, blechám, mouchám, klíšťatům aj.), kteří se uplatňují za dané epidemiologické situace v biologickém přenosu nákazy. Kromě dezinsekčních prostředků mechanických, fyzikálních, biologických a genetických se uplatňují hlavně chemické prostředky. Nejčastěji se používají dýchací jedy a nervové kontaktní jedy.

Deratizece – je soubor opatření k ničení hlodavců. Provádí se dvěma způsoby – profylakticky (odstraňování odpadků a zbytků potravin) a represivně (kladení otrávených návnad, pastí, používání zvířat lovcích hlodavce).

Zásady osobní hygieny na mikrobiologickém pracovišti:

Všichni pracovníci mikrobiologických laboratoří jsou povinni úzkostlivě dodržovat zásady osobní hygieny. Nutné je správné mytí rukou a dezinfekce po ukončení práce, po znečištění biologickým materiálem, před opuštěním laboratoře, před jídlem, pitím a kouřením. Ruce se dezinfikují omýváním v 0,5% Chloraminu nebo v 0,2% Persterilu nebo v 1% Jodonalu B po dobu 1 minuty, potom se důkladně omyjí tekoucí teplou vodou, kartáčkem a mýdlem, osuší a ošetří ochranným krémem.

K novějším přípravkům patří např. SPITADERM, který slouží k hygienické a chirurgické dezinfekci rukou, k okamžité dezinfekci kůže před operacemi, punkcemi, odběry krve nebo očkováním. Je účinný proti bakteriím, mykobakteriím, kvasinkovitým mikroorganismům, obaleným virům – HBV, HVC, HIV, herpetickým virům a rotavirům.

Po kontaminaci vysoce infekčním materiálem, jakož i bezprostředně po manipulaci s původci vysoce virulentních nálezů, je nutné se osprchovat a vyměnit ochranný oděv. Během práce s infekčním materiálem je nutností vyvarovat se bezděčných pohybů a nehygienických návyků, jako je mnutí očí a nosu, okusování nehtů a tužek, škrábání ve vlasech a uších apod. Jíst, pít a kouřit je povoleno pouze ve vyhrazených prostorách, a to po umytí a dezinfekci rukou a odložení ochranného pláště. Potraviny lze uchovávat v chladničkách vyhrazených pouze k tomuto účelu.

2. Základy klinické mikrobiologie, historie, rozdělení

Klinická mikrobiologie studuje vztah mikroorganismů a lidského organismu, především se zaměřuje na původce a průběh infekčního onemocnění.

Biologický druh Homo sapiens žije na této planetě přibližně 500 000 let, ale teprve v posledních 500 letech člověk začal přírodu vědecky poznávat (Kopernik, Galilei, Kepler). V té době ale nikdo netušil, že existuje všude kolem nás kromě světa rostlin a zvířat i svět drobných, okem neviditelných živočichů – mikroorganismů, a že podstatou kvašení, úrodnosti

půdy, kažení potravin a infekčních onemocnění jsou právě mikroorganismy. Původci infekčních onemocnění byli objeveni teprve před 300 lety. Objevitelem mikroorganismů byl amatér, obchodník s plátnem Antoni van Leeuwenhoek (1632), jeho koníčkem byla výroba čoček, kterými si prohlížel různé tekutiny. Popsal i spermie, kvasinky, erythrocyty a různé prvoky. Další poznávání mikroorganismů bylo podmíněno vývojem složeného mikroskopu, ale k tomu došlo teprve v minulém století. Karl Linné v roce 1767 zařadil všechny mikroorganismy do třídy Chaos. Teprve v minulém století došlo k výraznějšímu a dynamičtějšímu rozvoji v oblasti bádání původců infekcí a výrazně se o to zasloužil Louis Pasteur (1822). Louis Pasteur také prokázal existenci života bez přístupu vzduchu – anaerobiózu. Byl to velmi nadšený a geniální přírodovědec a experimentátor. Autorem teorie o buněčné struktuře byl Theodor Schwann (1830). Další výraznou postavou počátků mikrobiologie byl Ignác Semmelweis, který, v roce 1847 vyslovil po svých pozorováních názor, že příčinou vysoké úmrtnosti rodiček na klinikách jsou sami lékaři, kteří přenášejí mikroorganismy kontaminovanými rukama. Robert Koch přinesl nezvratné důkazy, že bakterie jsou etiologickým agens některých infekčních onemocnění. Robert Koch pracoval jako venkovský lékař v Prusku. Pro svoje bádání měl k dispozici mikroskop, chemikálie, laboratorní sklo, měl možnost chovat laboratorní zvířata, a proto soustředil svou pozornost na anthrax, později také na původce tuberkulózy. Koch před zraky vědeckých a lékařských kapacit předvedl v několikadenním experimentu kauzální vztah mezi konkrétní bakterií a specifickou nemocí. Vyvolal tím rozruch v celé odborné veřejnosti. Dodnes jsou tyto informace známy jako Kochovy postuláty:

1. Bakterie musí být přítomna v každém případě nemoci.
2. Musí být izolovatelná v čisté kultuře (populace bakterií obsahující jen jedince téhož druhu, nejčastěji klon vzniklý z jediné bakterie).
3. Naočkování této čisté kultury do pokusného zvířete u něj musí vyvolat příslušnou nemoc s charakteristickými příznaky.
4. Z infikovaného a nemocného zvířete lze bakterii znovu izolovat.

V roce 1882 se Robertovi Kochovi povedlo identifikovat původce tuberkulózy – *Mycobacterium tuberculosis*. V té době byly zavedeny také agarové půdy, a to znamenalo začátek nové epochy v mikrobiologii. Nastala také možnost pracovat s čistými kmeny a kulturami bakterií. K významnému rozvoji mikrobiologie – bakteriologii, přispěl i dánský mikrobiolog Christian Gram. V roce 1884 popsal způsob, jak obarvit bakterie a tento způsob slouží až dodnes jako základní barvení v bakteriologii – Gramovo barvení. Výsledkem tohoto barvení byly a jsou bakterie grampozitivní – modrofialové a bakterie gramnegativní – růžové až růžovočervené. Důvod, proč tomu tak je, byl zjištěn teprve asi před 40 lety a bylo objasněno, že za vše může odlišná stavba buněčné stěny bakterií. Za zmínku pak stojí ještě jeden objev v mikrobiologii. Odehrál se v roce 1942 a autorem byl Jaques Monod, později zakladatel molekulární biologie a laureát Nobelovy ceny za disertační práci o růstu bakteriálních kultur. Jaques Monod přesně definoval sloučeniny, které lze použít pro přípravu kultivačních médií sloužících k růstu a množení bakterií v laboratorních podmínkách. Do té doby se používaly pouze přírodní substráty – např. bujony – masový, peptický masový hydrolyzát atd. Monod také zformuloval základní definice o výživě bakterií, o jejich růstu a množení.

2.1 Taxonomie mikroorganismů

Cílem taxonomie mikroorganismů je charakterizovat bakterie, viry, parazity a plísně a zařadit je do taxonomických jednotek podle výsledku průkazu jejich vlastností a vzájemného

příbuzenského vztahu. Taxonomie se skládá ze tří oddělených, ale navzájem propojených oblastí – klasifikace, nomenklatura a identifikace. Klasifikace představuje uspořádání mikroorganismů do skupin na základě příbuznosti a podobnosti. Nomenklatura přiřazuje jména taxonomickým skupinám na základě mezinárodních pravidel. Výslednou identifikací je pak proces, který prokazuje, že výsledný kmen mikroorganismu patří do nějakého z dříve ustanovených a pojmenovaných taxonů.

Taxon je skupina organismů určitého stupně podobnosti (taxon z řeckého taxis – uspořádání). Taxonomie je soustava taxonů. Základním nejnižším taxonem sdružujícím individua s největší podobností je biologický druh. V taxon vyšší jsou pak spojeny sobě podobné druhy.

Názvosloví bakterií je tzv. binominální a řídí se mezinárodně dohodnutými pravidly (International Code of Nomenclature of Bacteria). Mezinárodní komise vydává Approved Lists of Bacterial Names, který obsahuje všechna platná vědecká jména bakterií. Název mikroorganismu je složen ze dvou slov a používá se v celé rostlinné i živočišné říši. Bakterie se pak dělí podle taxonomických pravidel na skupinu, čeleď, rod a druh. Pro určování a třídění bakterií jsou základem jejich vlastnosti, morfologické znaky, genetická příbuznost a metabolické reakce. Nomenklatura bakterií je oficiální a jediná, na rozdíl od klasifikace bakterií, která může být u různých autorů různá. Taxonomie je velmi dynamická vědní disciplína a neustále se rozvíjí na základě nově získaných informací. Jakými změnami prochází taxonomie bakterií a jak rychle, lze velmi dobře demonstrovat na rodu *Staphylococcus*. V literatuře se uvádí, že v roce 1920 byly popsány pouze dva druhy tohoto rodu: *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus aureus*. Dnes je známo asi 45 platných druhů. Obecně lze říct, že počty popsáných druhů bakterií narůstají. Existuje několik druhů stafylokoků v rámci tzv. koaguláza – negativních stafylokoků a u každého z nich lze najít informaci o patogenním působení na lidský organizmus. Nejvíce změn je u bakteriálních rodů, zejména u gramnegativních tyčinek, např. existuje několik druhů rodu *Escherichia* – 5 druhů, u rodu *Klebsiella* – 8 druhů, rod *Enterobacter* – 18 druhů, rod *Citrobacter* – 11 druhů, rod *Serratia* – 15 druhů atd. K výrazným změnám došlo v posledních letech také v taxonomii gramnegativních nefermentujících tyček. V současnosti existuje asi 160 druhů rodu *Pseudomonas*, 25 druhů rodu *Acinetobacter*. V roce 1973 bylo popsáno po srovnání ribozomální RNA 5 homologních skupin pseudomonád. Rod *Pseudomonas* se rozpadl a vzniklo několik nových rodů – např. *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Brevundimonas*, *Commamonas*, *Delftia*, *Ralstonia*. Závěrem se dá říci, že v lékařské mikrobiologii se u bakterií setkáváme s následujícími taxonomickými změnami:

1. V případě, že jsou rozdíly mezi dosud popsánými druhy bakterií považovány za významné, dochází k vytvoření nového druhu – vznikají nová rodová jména, např. *Aggregatibacter aphrophilus* (předtím *Haemophilus*), *Leclercia adecarboxylata* (předtím *Escherichia*), *Raoultella terrigena* (předtím *Klebsiella*), *Pantoea agglomerans* (předtím *Enterobacter*).
2. V případě, že mezi jednotlivými druhy bakterií jsou minimální rozdíly a v rutinní laboratoři nelze tyto kmeny odlišit, bývá vždy několik druhů zařazeno do tzv. komplexů - *Burkholderia cepacia* komplex, *Enterobacter cloacae* komplex, *Citrobacter freundii* komplex.
3. Izolovaný kmen někdy nelze s jistotou identifikovat na úroveň druhu, protože v rámci jednoho druhu bylo popsáno větší množství nespolehlivě nebo obtížně odlišitelných druhů. Výsledná identifikace se může pak omezit pouze na rodové jméno, např. *Pantoea species*, *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *Citrobacter sp.*

Zjištění vlastností jednotlivých organizmů vede k jejich správné identifikaci. Jednou z nejstarších a dobře propracovaných metod je identifikace bakterií na základě posouzení fenotypových vlastností. K dalším metodám identifikace mikroorganismů patří identifikace podle výsledků analýzy přítomných mastných kyselin, specifických pro určitý druh – taxon.

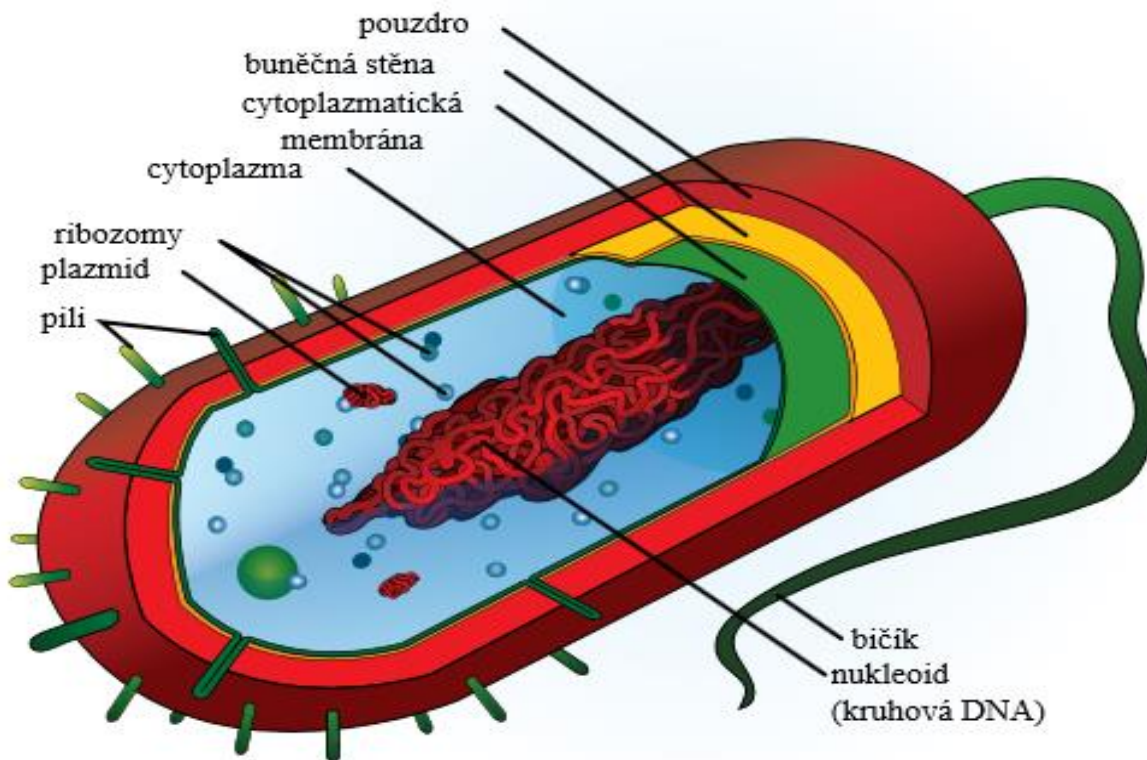
2.2 Anatomie a fyziologie mikroorganismů

Bakteriální buňka se skládá z buněčného obalu, cytoplazmy – jejích složek a vnějších struktur a buněčných organel.

Buněčné pouzdro je jedním z důležitých faktorů virulence. Opouzdřená bakterie je vysoce virulentní a velmi odolná. **Buněčný obal** je složen z **buněčné stěny** a cytoplazmatické membrány. Většina bakterií disponuje buněčnou stěnou, ale některé z nich buněčnou stěnu nemají (např. mykoplazmata) anebo ji mají pouze částečně vytvořenou (např. chlamydie – chybí kyselina muramová a převažuje větší množství lipidů). Buněčná stěna poskytuje bakteriím ochranu a schopnost udržovat si stálý tvar. Základní stavební složkou buněčné stěny je peptidoglykan. Stavba této stěny je rozdílná u grampozitivních a gramnegativních bakterií. **Grampozitivní bakterie** mají silnou jednodušší buněčnou stěnu, která obsahuje kyselinu teichoovou a vrstvy peptidoglykanu. Buněčná stěna **gramnegativních bakterií** obsahuje malé množství peptidoglykanu a je bez kyseliny teichoové. Povrch buněčné stěny kryje vrstva nazývaná vnější membrána se značným množstvím antigenů. V případě, že je buněčná stěna bakterií odstraněna, dochází k lýze bakterií. Cytoplazmatická membrána bez buněčné stěny nemá schopnost vyrovnávat osmotické tlaky uvnitř bakteriální buňky a v prostředí, ve kterém se nachází. Na povrchu bakteriálních buněk se nachází řada bílkovinných struktur označovaných jako **antigeny**. Díky přítomným antigenům a jejich různorodosti lze bakterie identifikovat buď přímo (detekcí antigenu v biologickém materiálu) anebo nepřímo - sérologicky (průkazem protilátek v séru pacienta).

Cytoplazmatická membrána je skutečnou bariérou mezi vnitřním a vnějším prostředím bakterie a je selektivně permeabilní. Je velmi důležitá pro buněčný metabolismus, protože je v ní uložen základní energetický systém bakteriální buňky. Dalšími komponentami cytoplazmy jsou DNA, ribozomy a zásobní granula. Bakteriální buňka nemá jadernou membránu. V bakteriální cytoplasmě je uloženo chromatinové tělísko – **nukleotid**, které má jediný chromozom tvořený **desoxyribonukleovou kyselinou**. Mimo chromozom může být umístěna její malá část - plazmid, ale pouze u některých bakterií. **Plazmidy** jsou nositeli různých genů, většinou pro rezistenci k antibiotikům - **R plazmid**. Další složkou jsou ribozomy – složité struktury obsahující několik molekul ribonukleové kyseliny - RNA a proteinů. V ribozomech probíhá syntéza proteinů. **Organely** jako **zásobní granula** mají funkci udržovat nadbytek metabolitů. Množství a přítomnost zásobních granul je variabilní, je závislé na typu a metabolické aktivitě příslušné bakteriální buňky. Součástí vnějšího obalu bakteriální buňky jsou bičíky, fimbrie a bakteriální pouzdro – obal. **Kapsula – pouzdro** chrání a pokrývá mnoho bakterií patogenních i nepatogenních. Některé bakterie mají buněčné pouzdro složené z polypeptidů, ale většina z nich má pouzdro složené z polysacharidů. **Flagella – bičíky** jsou přítomny u řady bakterií a plní především funkci pohybu. Většina bakteriálních bičíků je složena z jednoho polypeptidu – **flagelinu**. Pohyb je způsobován rytmickým stahováním a natahováním bičíků, který připomíná rotační pohyb lodního šroubu. Rozložení bičíků je různé, některé bakterie je mají po povrchu těla, jiné mají pouze jeden na jednom pólu anebo mohou mít několik bičíků na jednom pólu, nebo jeden i více na obou pólech. **Fimbrie – pili** (z latinského – vlasy) jsou vlákna složená z proteinů nacházející se na

celém povrchu gramnegativních bakterií. Pili jsou velmi významné v patogenitě bakterií, neboť umožňují výměnu genetického materiálu mezi bakteriemi. Fimbrie neřadíme k pohybovým orgánům bakterií. Bakteriální spóry jsou schopné tvořit některé bakterie. **Spory** představují klidové stádium bakterie a umožňují jí přežít nepříznivé vnější podmínky. Endospory jsou uloženy uvnitř mateřské bakteriální buňky.



Obrázek 2 - Schéma bakteriální buňky
Zdroj: Šípek, www.genetika-biologie.cz

Fyziologie bakteriální buňky zahrnuje především růst bakteriální buňky a metabolické reakce. Pro růst jsou stěžejní u bakterií nutriční požadavky, nejlépe rostou v prostředí s optimálními výživovými podmínkami – **dostatek kyslíku, oxidu uhličitého, anorganických iontů a organických látek**. **Kyslík** je velmi důležitý pro růst aerobních bakterií, růst anaerobních bakterií jeho přítomnost potlačuje. Vyšší tenzi **oxidu uhličitého** je nutné zajistit mnohým bakteriím. Důležitým předpokladem růstu a množení bakterií jsou také **anorganické látky** – fosfor, draslík, hořčík atd. **Aminokyseliny, sacharidy a vitamíny** jsou organické látky nutné pro růst a vývoj bakteriálních buněk. Metabolické reakce probíhají u všech bakterií, u některých velmi intenzivně, u jiných méně intenzivně. Podle závislosti a využití kyslíku se bakterie dělí na:

1. **aerobní bakterie** - vyžadují kyslík pro svůj růst a množení
 2. **anaerobní bakterie** – mohou růst pouze v nepřítomnosti kyslíku
 3. **fakultativně aerobní** nebo **fakultativně anaerobní bakterie** – rostou buď v přítomnosti, nebo nepřítomnosti (nedostatku) kyslíku
- Pro svůj metabolismus využívají bakteriální buňky sacharidy – jsou pro ně zdrojem energie. V neposlední řadě je metabolická aktivita bakteriálních mikroorganismů typická produkcí oxidačních a proteolytických enzymů.



Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

3 Odběr, zasílání a transport biologického materiálu

3.1 Odběr biologického materiálu

Správná diagnostika infekčního agens předpokládá potvrzení klinického podezření na infekční onemocnění, průkaz etiologie, zahájení správné a účinné léčby a provedení účinných protiepidemických opatření. Dále je nutná znalost správné techniky odběru infekčního materiálu, sterilní odběr infekčního materiálu a odběr typické části infekčního materiálu. Jakýkoliv odběr biologického infekčního materiálu by měl být provedený vždy před zahájením antibiotické terapie. Pro optimální diagnostický závěr je důležitý opakovaný odběr. Každý odebraný vzorek musí být řádně označen. Na výsledek mikrobiologického vyšetření má rozhodující vliv správně provedený odběr, správné a rychlé zaslání infekčního materiálu do mikrobiologické laboratoře a správné zpracování infekčního materiálu. Nezbytností je chránit se při odběrech biologického materiálu a používat roušku, ochranné brýle a rukavice.

Odběry a výtěry z HCD

Pro odběr biologického materiálu z horních cest dýchacích používáme tampon s transportní půdou AMIES.

Výtěr z nosu, nosohltanu, tonzil a hrtanu je nevhodnější provádět ráno před ranní hygienou. Výtěry provádíme vatovým tamponem pomalým otáčivým pohybem, abychom setřeli co největší plochu.

Odběr sputa provádíme ráno při prvním vykašlání. Před odběrem vzorku si pacient důkladně vypláchne ústa čistou vodou a potom zhluboka zakašle. Vykašlané sputum se zachytí do sterilní nádoby – sputovky.

Výtěry a stěry klinického materiálu

Stěry z rány, hnis a výpotek odebíráme z okraje rány, k odběru užíváme sterilních souprav z umělé hmoty na jedno použití. Po odběru se zanořují do transportní půdy AMIES s aktivním uhlím. Pokud požadujeme mikroskopické vyšetření – dříve než zamoříme odběrový tampon do transportní půdy, uděláme z něj **nátěr na sklíčko** pro mikroskopii.

Odběr pro anaerobní kultivaci:

Při podezření na anaerobní infekci se doporučuje odebírat vzorky hnisu, punktáty i exudáty **do sterilních stříkaček**. Ze stříkačky s odebraným materiálem a s nasazenou jehlou se odstříkne vzduch (do sterilní zkumavky dnem vzhůru, aby se nešířil infekční aerosol) a jehla se vpíchne do sterilní gumové zátky, aby nevnikal vzduch k materiálu. S materiálem je nutno manipulovat rychle - včetně transportu do laboratoře. Anaeroby jsou velmi citlivé na kyslík a rychle v jeho přítomnosti hynou.

Výtěry z oka, ucha a stěry z kůže i další biologické materiály doporučujeme odebírat tamponem s transportní půdou – AMIES.

Požadavek na specifická vyšetření je nutné označit na žádance – anaerobní, mykologické, příprava autovakcín a jiná vyšetření.

Odběr mozkomíšního moku (liquor)

Mozkomíšní mok se na mikrobiologické vyšetření odebírá do sterilní zkumavky v množství asi 7-10 ml. Liquor se odebírá lumbální punkcí za přísně aseptických podmínek. Při podezření na hnisavou meningitidu lze do dvou hodin připravit preparát pro orientační mikroskopické vyšetření a výsledek sdělit ošetřujícímu lékaři.

Odběr krve pro hemokultivaci

Odebíráme 5-7 ml krve do speciálních hemokultivačních nádobek, které obsahují tekuté i pevné kultivační médium pro aerobní kultivaci.

Pro anaerobní kultivaci odebíráme krev do anaerobních hemokultivačních nádobek, které umístíme přímo do speciálních přístrojů pro kultivaci anaerobních patogenů přítomných v krvi pacientů - Bactec nebo Bactalert.

Krev – sérum pro virologické vyšetření odesíláme co nejdříve, je však možné ponechat ho v lednici cca 24 hodin.

Pro odběr **gynekologického materiálu** doporučujeme použít tampon s transportní půdou, obzvláště při podezření na přítomnost *Neisseria gonorrhoeae* /původce kapavky/ dbáme, aby odběrová souprava před odběrem a její uchování po odběru proběhlo při pokojové teplotě /neuchovávat v chladu/!

Mikrobní obraz poševní - MOP: nátěry poševního sekretu provádíme (na dvě sklíčka) rovnoměrně natřené a po zaschnutí je ukládáme do transportního boxu (v krabičce).

Průkaz mykoplasm a ureaplasmat se stanovením antibiogramu:

Pro průkaz výše uvedených patogenů je vhodný gynekologický výtěr, výtěr z uretry.

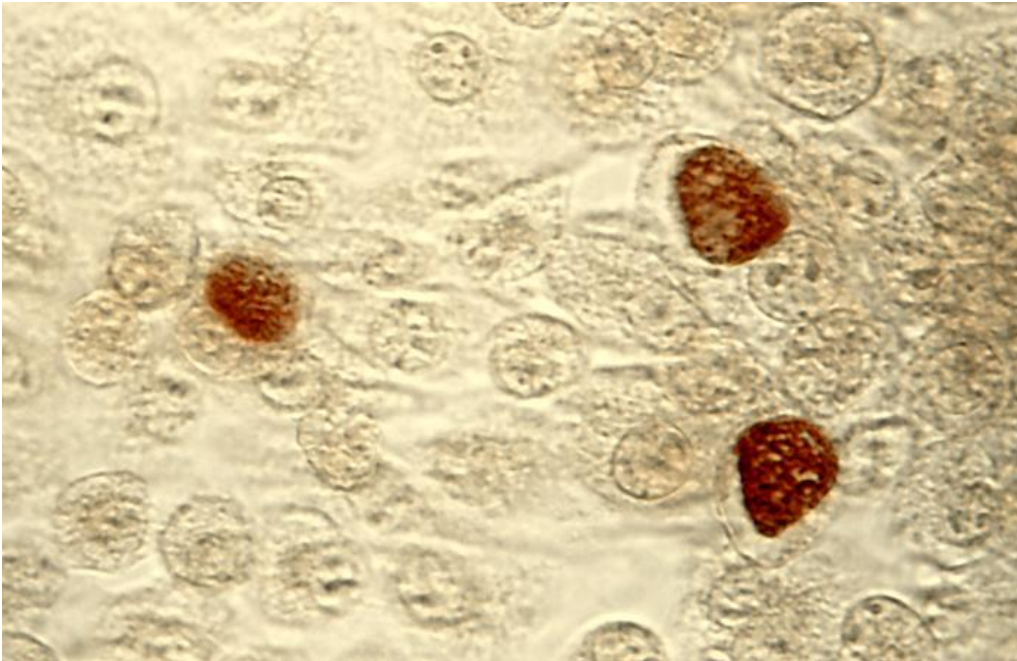
Používáme opět sterilní tampony s přenesením biologického materiálu do transportního média (lahvičky). Materiál je vhodné ihned dodat do laboratoře, příp. skladovat max. do druhého dne při teplotě 2–8 °C nebo 5 hodin při 18–25 °C.

Výtěry z uretry na průkaz chlamydií (*Chlamydia trachomatis*):

Chlamydia trachomatis je původcem uretritíd a prostatitíd.

U žen způsobuje sdružené záněty cervixu, vejcovodu a děložních adnex.

Průkaz je obtížnější než u jiných bakteriálních agens, protože tento mikroorganismus má jinou morfologii než běžné patogeny.



Obrázek 3 *Chlamydia trachomatis*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu/>

Upřednostňuje se přímý průkaz antigenu imunoenzymatickou metodou před kultivací původců na tkáňových kulturách.

Výtěry z uretry odebíráme do speciální odběrové soupravy nebo na suchý sterilní tampon. Při výtěru z uretry očistíme ústí uretry gázou nebo tampónem a sterilním tamponem pomalým zasouváním a otáčením tamponu do hloubky asi 3–4 cm od ústí uretry uretru vytřeme (abraze sliznice).

Provedený výtěr zašleme do laboratoře. Odebraný materiál je možné skladovat při teplotě 2–8 °C.

Odběry moče při podezření na infekci uropoetického systému:

Při podezření na uretritidu je vhodné odebírat první porci moče.

U předpokládané infekce vyšších etáží močového systému je vhodné odebrat vzorky ze středního proudu. Při infekci prostaty se odebírá poslední porce moče.

Jediný způsob, jak odebrat moč zcela sterilně, je suprapubická punkce močového měchýře.

U hospitalizovaných pacientů odebíráme moč cévkovanou.

Odběr moči do soupravy Uricult:

Z Uricultu oddělíme sterilní odběrovou nádobku a kryt se závitem, do odběrové nádoby se pacient vymočí a nosič se živnými půdami do ní ponoříme.

Po cca 1 minutě namočení nosiče nosič opět z nádoby vyjmeme, důkladně vylijeme přebytek moče a uzavřeme zpět do vyprázdněné nádoby.

Uzavřenou nádobku zašleme do mikrobiologické laboratoře. Uricult se v posledních letech už používá méně.



Obrázek 4 Uricult culture-medium

Zdroj: https://www.servoprax.com/images/5000/00332_1.jpg

Odběr na bakteriální vyšetření stolice:

Provádíme výtěr z rektu a zasíláme v transportní Amiesově půdě.



Obrázek 5 rektální tampon Amiesovo médium

Zdroj: <http://www.mikrobiologiehk.cz>

Výtěr provedený **deoxycholát – citrátovým** – tamponem je přípustný při hromadných vyšetřeních při podezření na salmonelózu a shigelózu. Při podezření na kampylobakterovou infekci používáme speciální odběrové soupravy a kultivujeme na Karmaliho půdě.

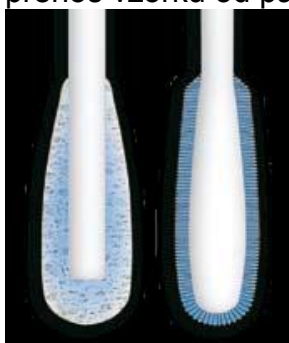
Zaslání kousku stolice lze použít pro virologické i parazitologické vyšetření. Pro virologické vyšetření je dostačující výtěr z konečníku. Pro parazitologické vyšetření je nutný odběr kousku stolice do sterilních odběrových souprav nejlépe obden 3x po sobě.

Na virologické vyšetření se zasílá výtěr z konečníku provedený speciálním odběrovým tampónem.

Odběr stolice na parazity se provádí ob den 3x za sebou.

Odebrané biologické vzorky bez transportního média doručíme do mikrobiologické laboratoře co nejdřív, nejlépe do dvou hodin od odebrání. Vzorky s transportním médiem můžeme doručit do laboratoře nejpozději do 24 hodin. Moč můžeme ponechat v lednici při 4 °C.

Flocked swabs – jsou speciální odběrové tampóny s velmi dobrou přilnavostí a vzlínavostí biologického materiálu a přítomných mikrobů. Jsou vyráběny novou technologií nástřiku nylonových vláken v elektrostatickém poli. Nejedná se o námotek jako u tradičních tamponů, ale o rovnoběžně orientovaná nylonová vlákna, která působí jako měkký kartáček a umožňují tak lepší odběr biologického vzorku. Mikroorganismy i buňky neulpívají mezi vlákna námotku, ale jsou aktivně zachyceny elektrostatickou a kapilární silou. Flocked tampon je revoluční odběrový koncept nabízející schopnosti, které tradiční odběrový tampon nemůže nabídnout. K přednostem nových Flocked – tamponů patří anatomický a ergonomický design (pro lepší komfort pacientů a účinnost při odběru vzorku), lepší odběr vzorků (sametový povrch tamponu rychle a účinně zachytí buňky), rychlé automatické vymytí (okamžité a spontánní uvolňování odebraného vzorku do tekutého média) a kvantitativní přenos vzorku (dokonalý přenos vzorku od pacienta do transportní zkumavky).



Obrázek 6 Flocked swabs tampony

Zdroj: <http://www.dispolab.cz/picture/Flocked-swabs.pdf>

3.2 Dokumentace a evidence

Žádanky o vyšetření i výsledky vyšetření se evidují a archivují v elektronické podobě na většině pracovišť, ale i v tištěné formě. Vysokoškolsky vzdělaní pracovníci mikrobiologické laboratoře validují a uzavírají výsledky vyšetření a uvolňují je do tisku. V laboratořích jsou k dispozici výsledky v elektronické i tištěné formě. Tištěné kopie výsledků se archivují 5 let. Soukromým osobám se výsledkové listy nevydávají, ani se telefonicky nesdělují. Telefonicky se výsledky sdělují jen sestřám a lékařům po vzájemném představení, a to v těchto formách:

- a/ prosté sdělení obsahu výsledku
- b/ sdělení výsledku s odbornou interpretací
- c/ sdělení výsledku s odbornou antibiotickou konzultací

4 Běžná fyziologická flóra a její význam

Člověk je od svého narození trvale obklopen mikroorganismy. Jsou prakticky všude kolem nás v prostředí a osídlují také povrch lidského organismu. Většina mikroorganismů osídlujících lidský organismus žije s makroorganizmem v symbióze a souladu, jsou si navzájem prospěšné. Osídlení mikroorganismy představuje pro člověka jednu z ochranných imunitních bariér. Důležitost fyziologické flóry pro člověka je rozhodující při dlouhodobější léčbě širokospektrálními antibiotiky, ale také při léčbě cytostatiky. Tehdy dojde k výraznému snížení počtu mikrobů fyziologické flóry, které jsou většinou k antibiotikům dobře citlivé.

Vzniká tak příležitost pro pomnožení patogenních mikroorganismů, z nichž některé mohou být v malém množství přítomny na sliznicích a kůži lidského těla - dochází k dysmikrobii.

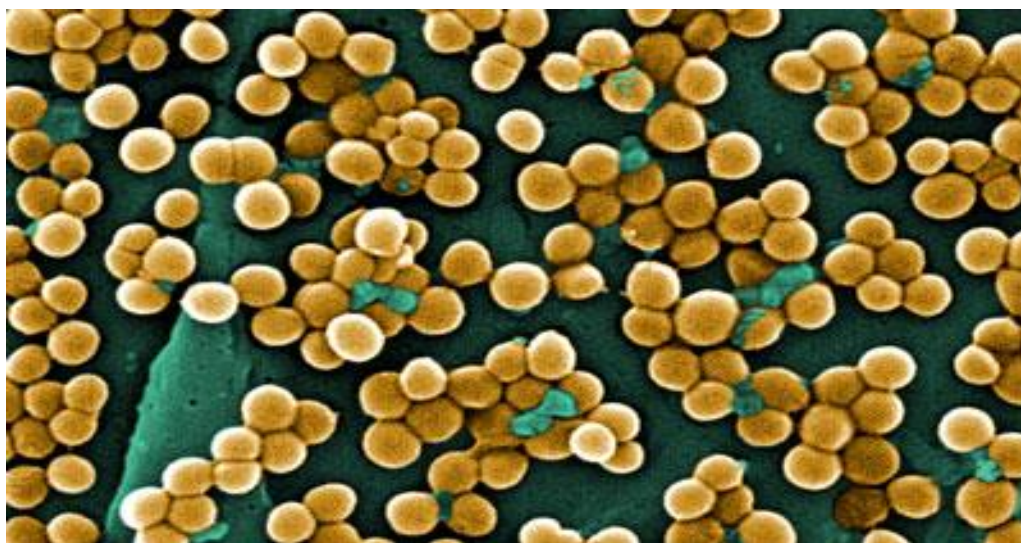
Člověk – novorozenec je po celou dobu prenatálního vývoje ve sterilním prostředí a jeho organismus je bez osídlení mikroorganismy. Matka je pro novorozence první zdroj mikrobiálního osídlení, ke kterému dochází už v prvních hodinách po narození. Po porodu se novorozenec setkává s bakteriemi z prostředí a těmi, které kolonizují nemocniční personál a ostatní jedince. Během krátkého období si dítě vytvoří vlastní fyziologickou mikrobiální flóru. Normální mikrobiální flóra každého individua prodělává určité změny podle změn životního stylu a prostředí, ve kterém žije. Změny lze pozorovat i v závislosti na věku. Běžná fyziologická flóra každého jedince představuje také důležitou ochrannou bariéru.

4.1 Lokalizace běžné fyziologické flóry

Mikroorganismy se nalézají na těch částech lidského těla, které komunikují se zevním prostředím, to je na kůži, v nose a v ústní dutině, v intestinálním traktu a urogenitálním traktu. Vnitřní orgány a tkáně jsou za normálních fyziologických okolností sterilní.

Mikroflóra kůže

Kůže má největší kontakt se zevním prostředím, a tak je nejvíce exponována různým druhům mikroorganismů. Osídlena je rozdílně, nejvíce mikrobů se nachází v axilách, na perineu, na nohou, ve vlasech. Z **bakterií** se na kůži nalézá v 90 % *Staphylococcus epidermidis*, dále *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Propionibacterium acnes*, mikrokoky, sarciny. Přechodně mohou být přítomny **Staphylococcus aureus** a některé druhy streptokoků. Zevní ucho, genitál a axilu příležitostně kolonizují některá saprofytická mykobakteria. Některé **fungi** - jako *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata*, *Pityrosporum ovale* a *Pityrosporum orbiculare* osídlují kůži, zejména její záhyby. Většina těchto mikroorganismů se nachází na povrchu kůže, jen některé nacházíme v hlubších partiích kůže. Mezi faktory, které eliminují patogenní flóru, patří nízké pH, přítomnost lysozymu a mastné kyseliny. Osídlení vlasů je podobné jako na kůži.



Obrázek 7 *Staphylococcus aureus* (elektronmikroskopicky)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Spojivky

Z kůže je nejspíš odvozena mikroflóra zdravých spojivek. Mechanické působení mrkání a chemická skladba slz brání trvalému osídlení infekčními agens. Nejčastějšími mikroorganismy jsou *Staphylococcus epidermidis*, difteroidní tyčky a saprofytické plísně.

Respirační trakt

Horní cesty dýchací

Nos a nasopharynx jsou osídleny bakteriemi zachycenými z inhalovaného vzduchu.

Nos a nasopharynx

Osídlení nosní sliznice je převážně bakteriemi - *Staphylococcus epidermidis*, viridujícími (*Streptococcus viridans*) a nehemolytickými streptokoky a nepatogenními neisseriemi (*Neisseria pharyngis*, *Neisseria lactamica*), difteroidními tyčinkami. Často se vyskytují i potenciálně patogenní *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella species* a *Branhamella catarrhalis*. Vymýcení typické flóry antibiotiky vede ke kolonizaci gramnegativními tyčinkami (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*) a eventuálně ke vzniku infekce. Nasopharynx je často místem nosičství patogenních bakterií – *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bordetella pertussis*. Kolonizace nasopharynx začíná brzo po porodu do 2 až 4 dní.

Dutina ústní

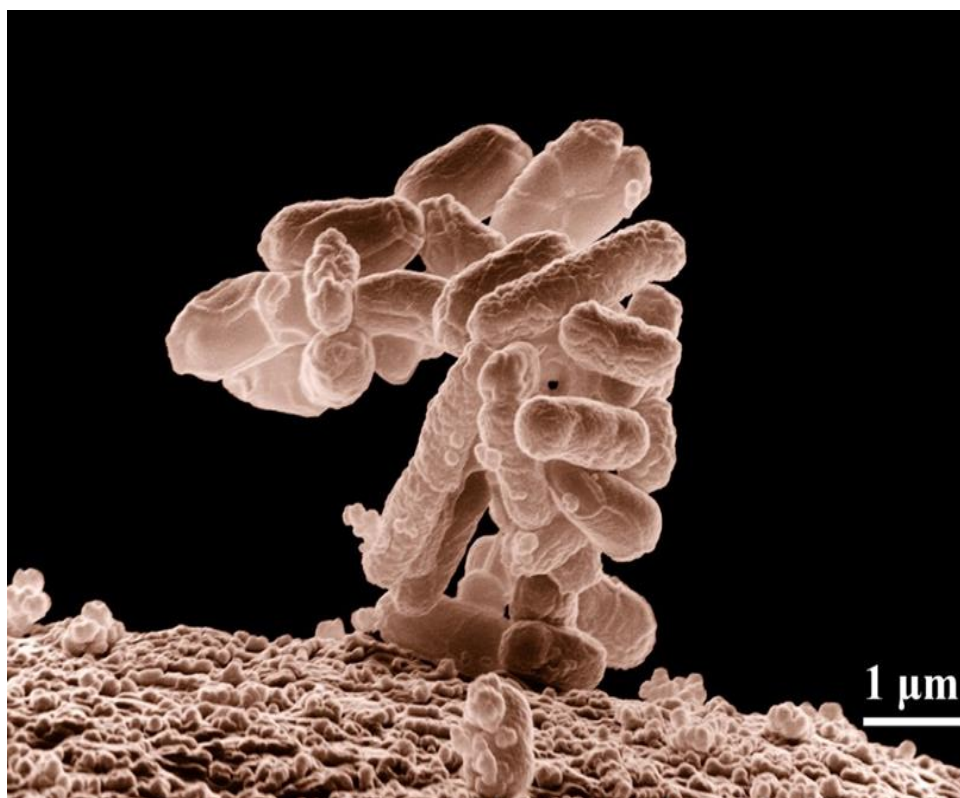
Dutina ústní novorozence je osídlená přechodně mikroorganismy, které jsou v porodních cestách – *Lactobacily*, *Korynebakteria*, stafylokoky a mikrokoky. Během 2-5 dnů je tato flóra nahrazena běžnou fyziologickou flórou matky a flórou zdravotnického personálu.

Složení mikrobiální flóry dutiny ústní je velmi individuální. Souvisí také s tím, jaké potraviny převládají v našem jídelníčku.

Běžnou fyziologickou flóru tvoří viridující streptokoky (s ostatními druhy streptokoků tvoří 30-60 % všech přítomných mikrobu), nepatogenní neisserie, *Haemophilus influenzae b*, *Candida albicans* (u 10-15 % populace). Anaerobní mikroorganismy osídlují zejména krypty tonzil, choboty dásní a plaky, kde je nižší hladina kyslíku (např. *Lactobacillus sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Bacteroides melaninogenicus*, nepatogenní treponemy, některé druhy klostridií).

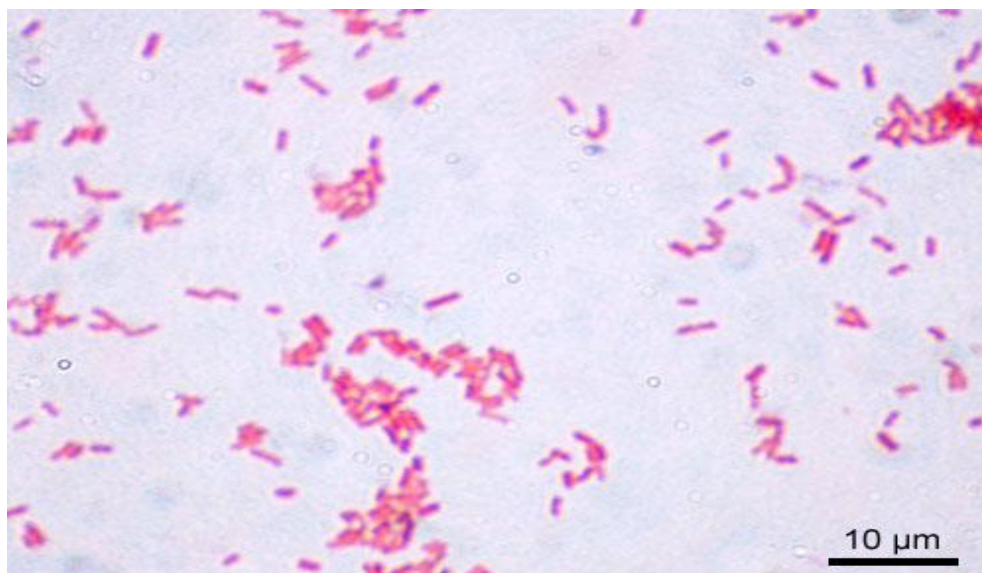
Gastrointestinální trakt

Nejvíce ze všech rezervoárů běžné flóry je osídlený gastrointestinální trakt. U novorozence je obvykle sterilní a ke kolonizaci dochází už během 24 hodin po narození. U novorozenců a kojenců převládá *Lactobacillus sp.* a *Bifidobacterium sp.* a další mikroorganismy, které jsou stejné jako u dospělých. Žaludek by neměl obsahovat u zdravých lidí žádné mikroorganismy. Tenké střevo je osídleno minimálně, převážně je sterilní. V duodenu a jejunu nalzáme *Lactobacily*, streptokoky a kandidy, které se mohou pomnožit a stát patogeny při porušení rovnováhy. Sterilitu v horní části tenkého střeva udržuje peristaltika, dolní část tenkého střeva je osídlena více. **Tlusté střevo** je hlavním rezervoárem mikroorganismů v lidském těle. *Escherichia coli* je nejpočetnější mikrob, další enterobakterie jsou - *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, ojedinele *Serratia*, *Hafnia*, enterokoky. Z anaerobů především to jsou z 90-99 % *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Klostridia*. K dalším mikroorganismům patří *Candida* a protozoa *Entamoeba coli*. Rovnováha mezi mikroorganismy ve střevě zajišťuje optimální funkci imunitního systému tím, že umožňuje fyziologicky dostatečné vstřebávání všech živin.



Obrázek 8 *Escherichia coli* (elektronmikroskopicky)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Obrázek 9 *Escherichia coli* (Gramovo barvení)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Urogenitální trakt

Urogenitální trakt novorozence je sterilní. Během dvaceti čtyř hodin po narození se kolonizuje nepatogenními mikroorganismy. Před pubertou má vagína alkalické prostředí.

Horní část urogenitálního traktu (ledviny, močovod, močový měchýř, vaječníky a varlata) jsou sterilní.

Fyziologicky osídlená je z močových cest pouze přední část močové trubice, pochva a zevní genitálie převážně *Staphylococcus epidermidis*, nehemolytickými streptokoky – *Enterococcus faecalis*, difteroidními tyčkami, *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Proteus*.

Typickou mikroflóru urogenitálního traktu ženy tvoří řada různých mikroorganismů, které zajišťují mikrobiální rovnováhu a ochranu proti infekcím. U zdravé ženy je vagína osídlená směsí laktobacilů – tzv. Doderleinův laktobacil, který vytváří kyselé prostředí a chrání poševní sliznici před osídlením jinými patogenními mikroorganismy. Vaginální flóra dospělé ženy neobsahuje Enterobakterie, i když je anatomicky v těsné blízkosti konečníku. Na sliznici vagíny najdeme také bohatou škálu anaerobních bakterií - např. *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*. Na zevních genitáliích žen se nachází běžná kožní flóra - *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Candida*, *Sarcina*. Mikrobiální osídlení vagíny je vždy ovlivněno hormonálně. S nástupem puberty dochází u děvčátek k postupnému osídlení sliznice laktobacily, které vytváří kyselé pH fermentací glykogenu a tím snižují možnost osídlení sliznice patogeny. Změny hormonální situace zvyšují riziko osídlení sliznice patogenními mikroorganismy a tím snadněji vzniká infekce. V období klimakteria může pro ženu představovat snížená přítomnost laktobacilů riziko vzniku infekce. Vagina bývá někdy kolonizována *Streptococcus agalactiae* bez klinických důsledků, ale rizikem je u těhotných žen tato infekce pro novorozence. Příčinou výskytu těchto potíží je diabetes, hormonální změny, antibiotická terapie.

Krev a vnitřní tkáň

Za normálních okolností jsou sterilní. K přechodnému rozsevu bakterií může dojít během lékařských zákroků.

Přirozené ochranné bariéry

Každý zdravý lidský organizmus je vůči infekci rezistentní. V případě, že je vystaven vysoce virulentnímu mikroorganismu, onemocní. Přirozené ochranné bariéry lze rozdělit na mechanické, chemické a imunologické.

1. Mechanické bariéry

Tyto bariéry brání infekčním agens uchytit se a pronikat do buňky. Primární ochrannou bariérou proti infekci je **kůže**. Nepropustná pro mikroorganismy je kůže nepoškozená, složená z vnější vrstvy keratinizovaných buněk a epidermis. Kůže se zbavuje kontaminujících bakterií odlučováním keratinizovaných buněk. Všechny sliznice jsou pokryty hlenem, který je chrání před kontaktem s mnoha patogeny. Horní část respiračního traktu je vystlána řasinkovým epitelem a pohyb řasinek napomáhá vylučovat zachycené bakterie. Fyziologické funkce jako kýchání, kašláním zvracením a průjemem jsou velmi účinné mechanismy k vyloučení velkého množství bakterií. Normální dýchání, pocení a vyměšování pomáhá také odstraňovat mikroby z organismu.

2. Chemické bariéry



Chemické bariéry v součinnosti s mechanickými procesy zvyšují primární obranyschopnost organismu. Mezi účinné součásti patří lysozym a kyselé pH fyziologických sekretů. Lysozym je enzym obsažený ve slinách, slizách a sekretech sliznic, který může ničit buněčné stěny bakterií.

3. Imunologické bariéry

Imunologické bariéry chrání organismus na buněčné a humorální úrovni.

4.2 Patogenita a virulence bakterií

Lékařská mikrobiologie se kromě jiného zabývá vztahem lidského organismu a mikroorganismů. Především těch mikroorganismů, které mají úzký vztah k lidskému organismu. Možnost mikroorganismu množit se v lidském těle je dána podmínkami – teplota, vlhkost, pH, dostatek živin, růstové faktory. V naprosté většině se člověk rodí jako bezmikrobní organismus a teprve v okamžiku porodu se setkává poprvé s mikroorganismy. Vzájemné vztahy těchto dvou subjektů se vyvíjely po celou dobu vývoje pod vlivem vzájemných selekčních tlaků. V současnosti můžeme tyto vztahy považovat za vzájemně užitečné a prospěšné. Vyjadřujeme je termínem adaptace.

Parazitismus označuje mikroorganismy, které se množí a přežívají v lidském těle a tyto mikroorganismy hostiteli (makroorganismu) škodí.

Komezalizmus je takový vztah, kdy mikrob využívá hostitele pro prostředí a jako zdroj výživy tak, že hostitel není poškozován.

Symbióza znamená soužití dvou partnerů, kdy oba mají ze soužití užitek, např. *Escherichia coli* a laktobacily v tlustém střevě nebo viridující streptokoky v ústní dutině.

Patogenita je schopnost mikrobiálního druhu vyvolat onemocnění konkrétního druhu hostitele. Termínem **virulence** označujeme míru patogenity určitého mikrobiálního kmene. Virulence daného mikrobiálního kmene může být rozdílná také díky vnímavosti jedince. Patogenní mikroorganismy můžeme z tohoto pohledu rozdělit na primární patogeny a oportunní patogeny. Za primární patogeny považujeme takové mikroorganismy, které jsou schopny vyvolat onemocnění u zdravého jedince plně vybaveného nástroji rezistence a schopného reagovat specifickou imunitou. Podmíněně patogenní druhy – oportunní druhy mikroorganismů mají podstatně složitější hodnocení a charakteristiku. Mikroorganismy tohoto typu jsou schopny být původci onemocnění jen tehdy, pokud jsou přirozené obranné mechanismy poškozeny – poranění kůže, poškození sliznic, překážky v odtoku moče, porucha fyziologických dějů, cizí tělesa v tkáni, poruchy plicní ventilace, umělohmotné náhrady v cévním řečišti, katétry a pokud je snížena funkce imunitního systému (infekce virem HIV).

Zdrojem infekce může být: **1. zevní prostředí** a **2. vlastní endogenní flóra**. Podmíněně patogenní druhy představují v současnosti velmi závažný problém, zejména v prostředí nemocnic v souvislosti s výskytem nozokomiálních nákaz. Původci těchto nákaz se formují na odděleních a klinikách a jejich vlastnosti se mění pod vlivem používaných dezinfekčních prostředků a antibiotik. Tyto infekce pak komplikují průběh základního onemocnění u pacientů hospitalizovaných na lůžkových odděleních. Infekční proces představuje několik následných kroků: setkání mikroba s hostitelem, jeho vstup do hostitelského organismu, šíření z místa vstupu množení v hostiteli, poškození hostitele přímým působením mikroba anebo odpovědi hostitele na přítomnost infekčního agens. Jednotlivé kroky infekčního procesu souvisí s produkcí faktorů patogenity. Jejich tvorba je geneticky kódována buď

chromozomálně nebo na plasmidech extrachromozomálně. Faktory patogenity můžeme rozdělit na faktory invazivity a toxické produkty. Faktory invazivity umožňují kolonizaci, průnik a množení a toxické produkty jsou většinou uvolňované do prostředí, ale také jsou vázané na bakteriální buňku a uvolňované po rozpadu. Celý infekční proces se děje v hostitelském organismu. V hostitelském organismu se mohou mikroorganismy množit volně, bez vazby na hostitelskou buňku, to jsou tzv. extracelulární paraziti. Další typ patogenů jsou intracelulární paraziti. Někteří z těchto patogenů jsou zcela závislí na metabolismu hostitelské buňky, jiní zase odolávají baktericidním mechanismům fagocytujících buněk. Mikroorganismy vstupují do hostitelského organismu nejčastěji kůží, sliznicemi respiračního, trávicího traktu, urogenitálního traktu a spojivkami.

K poškození hostitele může docházet různými způsoby, např. adhezí a invazí do buněk, produkcí toxinů, stimulací zánětlivé reakce a uvolněním cytokinů, indukci imunopatologických reakcí. Povrch sliznic je chráněn vrstvou hlenu a spolu s jinými faktory tvoří účinnou ochrannou bariéru před invazí mikroorganismů touto cestou. Řada bakterií má bičíky, díky kterým se velmi dobře pohybují a mohou pronikat skrz slizniční bariéru. Na povrchu buněk soutěží s přítomnou bakteriální fyziologickou flórou o přístup k živinám a čelí také obranným mechanismům hostitele. Významnou úlohu při vazbě bakterií na buňky hraje glykoprotein – fibronectin. Adherované bakterie se množí na povrchu a tvoří v povrchové vrstvě epiteliálního glykokalyxu mikrokolonie obalené vrstvou vlastního glykokalyxu, který bakterii chrání před fagocytujícími buňkami, antibiotiky a protilátkami. U zdravých jedinců jsou trvale kolonizovány sliznice dutiny ústní, nosní sliznice a sliznice horních cest dýchacích, spojivkový vak, sliznice tlustého střeva a sliznice vagíny. Kůže je osídlena charakteristickou mikrobiální flórou. Tato bariéra je velmi účinná a zůstává na povrchu trvale k ochraně proti pronikajícím mikrobům. Adherence mikroba může být způsobena jediným faktorem nebo se na ní může podílet více faktorů, např. fimbrie, M protein a lipoteichoová kyselina u streptokoků atd. Adherence je prvním krokem bakterií k jejich dalšímu průniku do hostitelské buňky a umožňuje také množení bakterií. Jako příklad můžeme uvést enteropatogenní *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* a produkci cholera genu (cholera toxin) nebo *Corynebacterium diphtheriae* a difteričkový toxin. Druhým krokem je průnik bakterií do hostitelské buňky. Invaze do buněk probíhá dvěma způsoby:

1. využitím vysoké afinity ligand mezi receptorem hostitelské buňky a bakteriálním adhezinem
2. vstup do buňky může být uskutečněn využitím transportního systému buňky

Tento mechanismus se uplatňuje u *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bordetella pertussis*, *Borrelia burgdorferi*, u leishmanií.

Vazba zprostředkovaná ligandami typu kolagenu, lamininu, fibronectinu, které se samy váží na integriny, je charakteristická pro streptokoky a stafylokoky. Tyto bakterie obvykle zůstávají extracelulárně. Další možností je průnik bakterie do hostitelské buňky jejich vzájemnou vazbou a následně změnou cytoskeletonu hostitelské buňky. Shigely jsou třeba schopny pronikat do buněk kartáčkovým lemem. Do sliznice vstupují v místech lymfoidní tkáně. *Yersinia enterocolitica* proniká podobně jako salmonela – aktivní endocytózou. *Listeria monocytogenes* proniká do buněk s využitím 3 faktorů internalinu, který je identický s proteinem zevní membrány. Množení bakterií in vivo je ovlivněno velmi výrazně například železem. Na železe je závislá také produkce toxinů u některých bakterií – *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*. Některé druhy bakterií jsou lokalizovány a vázány na určitou oblast lidského organismu např.

Proteus mirabilis využívá pro svůj metabolismus ureu, proto způsobuje infekce v močových cestách.

Toxické bakteriální proteiny

Bakterie při svém rozpadu nebo i aktivně transportují do svého okolí toxické látky. Mnohé z nich zvyšují patogenitu bakterií – *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracis*. Mohou být také hlavními faktory patogenity – např. u *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*. Toxické produkty bakteriálního metabolismu nazýváme toxické bakteriální proteiny – exotoxiny. Toxicita bakteriálních toxinů vztažena k organizmu se vyjadřuje v nanogramech na kilogram hmotnosti. Letální dávka botulotoxinu a tetanospasminu je 0,5–1 ng/kg hmotnosti. Zvláštností jsou toxiny produkované mimo hostitele, zejména v potravinách – botulotoxiny a stafylokokové toxiny. Exotoxiny jsou bakteriální toxiny produkované především gram pozitivními bakteriemi. Endotoxiny jsou bakteriální toxiny uvolňované až po rozpadu bakteriální buňky např. u gram negativních bakterií.

Podle místa zásahu dělíme toxiny na:

1. toxiny reagující s membránami eukaryotických buněk, které poškozují – cytolytické,
2. toxiny pronikající po vazbě na specifický receptor na buňce do cytoplasmy, kde ovlivňují různými mechanismy fyziologii buňky.

Podle cílových orgánů je dělíme na:

1. neurotoxiny (botulotoxiny, tetanospasmin),
2. enterotoxiny (choleragen, termolabilní a termostabilní enterotoxiny *Escherichia coli* dalších enterobakterií, stafylokokové enterotoxiny, enterotoxin *Clostridium perfringens*, enterotoxin *Bacillus cereus*),
3. dermonekrotoxiny (difterický, stafylokokový alfa toxin, toxiny *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium ulcerans*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*),
4. cytotoxiny (např. *Clostridium difficile*),
5. kardiotoxiny (difterický, oxygenlabilní streptolysin produkovaný streptokoky A, C a G.),
6. kapilarotoxiny (toxiny *Bacillus anthracis*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium ulcerans*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*),
7. hemolysiny (stafylokokové, streptokokové, klostridiové, tetanolysin, listeriolysin),
8. leukocidiny (*Staphylococcus aureus*),
9. toxiny s vlastnostmi superantigenů (streptokokové pyogenní toxiny, stafylokokový toxin toxického šoku).

Produkce toxinů je kódována chromozomálně. Koncentrace iontů – Fe, Ca a Mg může ovlivňovat produkci toxických proteinů. Přímo na membrány eukaryotických buněk působí cytolytické toxiny, které poškozují i endotelie kapilár, trombocyty a leukocyty. Na poškození buněčné membrány se podílí několik typů mechanismů:

1. Enzymová hydrolýza membránových fosfolipidů fosfolipázami C a D - štěpí fosfatidylcholin (lecitin) a sfingomyelin (např. C fosfolipáza *Clostridium perfringens* vyvolává intravaskulární hemolýzu při myonekróze) i jiných klostridií, C sfingomyelináza *Staphylococcus aureus*, C lecitináza *Pseudomonas aeruginosa*, D sfingomyelináza *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium ulcerans*.
2. Tvorba pórů v buněčné membráně po vazbě na cholesterol - příkladem je 15 oxygenlabilních hemolysinů (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, klostridie, bacily, *Listeria monocytogenes*, tetanolysin *Clostridium tetani* atd.) Streptolysinu je připisována kardiotoxicita.

3. Povrchově aktivní hemolysiny (delta lysin *Staphylococcus aureus*)
4. Torba pórů insercí do buněčné lipidové dvojvrstvy – alfa toxin *Staphylococcus aureus* porušuje erythrocyty a může způsobovat také nekrózu.

Toxiny působící intracelulárně

Tyto toxiny působí třemi různými způsoby a jsou tvořeny polypeptidickými řetězci jako fragment A enzymově aktivní a fragment B, který se váže na buněčný receptor. Fragment A je sám o sobě netoxický, nemůže proniknout do buňky. Po vazbě fragmentu B na receptor je molekula naštěpená a po redukci disulfidických vazeb se fragmenty rozdělí, fragment A pronikne do cytosolu a fragment B zůstane na povrchu buňky.

Toxiny s transferázovou aktivitou

Mají schopnost katalyzovat ADP - ribosylací cílového proteinu v buňce, to znamená, že katalyzují přenos adenosindifosfát ribosy z nikotinadenosindinukleotidu.

Do první skupiny patří toxiny, které mají schopnost navázat ADP - ribosu na eukaryotický elongační faktor 2. To vede k zástavě proteosyntézy v buňce a následně k jejímu úhynu (A toxin *Pseudomonas aeruginosa*, difterický toxin).

Do druhé skupiny patří toxiny, které kovalentně navážou ADP - ribosu na regulační složky adenylcyklázy, což vede ke zvýšené produkci cyklického AMP (cholerový toxin, termolabilní enterotoxin *Escherichia coli*, toxin *Bordetella pertussis* – senzibilizuje pro – histamin, způsobuje lymfocytózu a leukocytózu).

Do třetí skupiny můžeme zařadit produkt *Clostridium botulinum* typ C2 a C3 odlišný od botulotoxinu. Transferázový toxin těchto typů *Clostridium botulinum* nemá prokazatelný podíl na toxicitě. Patří sem také iota toxin *Clostridium perfringens*.

Botulotoxin a tetanospasmin.

Oba tyto toxiny působí jako neurotoxiny. Botulotoxin se dostává do organismu obvykle potravou jako preformovaný a ze střeva je vstřebáván do krevního oběhu a odtud se dostává na neuromuskulární ploténky. Tím, že se naváže na motorickou část ploténky, vyvolá presynaptický blok uvolňování acetylcholinu. Tímto způsobem dojde k ireverzibilnímu ochabnutí svalů. Následuje smrt v důsledku paralýzy dýchacích svalů. Podle charakteristických antigenů jsou botulotoxiny označovány jako A-F. Člověka nejčastěji poškozují botulotoxin A, B a E. *Clostridium botulinum* se může v lidském organismu také množit v trávicím traktu, zejména u malých dětí. Kontaminovat se může i rána a tvořený botulotoxin se pak šíří a vstřebává stejným způsobem.

Tetanus, jeho patogenese začíná jako lokální infekce anaerobním mikroorganizmem *Clostridium tetani*. *Clostridium* neproniká do tkání, ale tetanospasmin je vychytáván nervovými zakončeními a transportován retrográdně do šedé hmoty předních rohů míšních, kde proniká do buňky. Toxin blokuje uvolňování inhibičních neurotransmiterů, a to vede ke křečím příčně pruhovaných svalů. Vazební fragment se může z vazby uvolnit a volně putovat a zvyšovat aktivaci kardiovaskulárních sympatických mechanismů, což vysvětluje riziko náhlé smrti.

Komplexní toxin

Samostatně se uvádí antraxový toxin, který má zvláštní postavení mezi toxiny. Je složený ze tří samostatných proteinů.

Všechny tři složky antraxového antigenu vyvolávají u postiženého edém a působí letálně. Celý komplex je vysoce imunogenní.

Bakteriální superantigeny

Charakteristické pro tyto antigeny je, že mají nestandardní způsob interakce s buňkami imunitního systému. Řadíme sem enterotoxiny a toxin toxického šoku *Staphylococcus aureus*, pyogenní toxiny i další toxiny *Streptococcus pyogenes*, superantigeny mykoplazmat, pseudomonád a enterotoxin *Clostridium perfringens*. Stafylokokové enterotoxiny jsou velmi důležitou příčinou tzv. otravy z potravin. Tyto bakteriální toxiny vyvolávají stafylokokovou enterotoxikózu po požití potravy, která obsahuje performované toxiny. Klinickým projevem tohoto onemocnění je průjem (po krátké inkubační době, který zpravidla odezní bez komplikací). Zvláštní postavení mají toxiny produkované bakterií *Streptococcus pyogenes*. Erytrogenní toxin má vztah ke spálovému exantému - později se tyto superantigeny přejmenovaly na pyogenní toxiny pro nejvýraznější efekt – horečku. Toxické bakteriální proteiny jsou bílkoviny, které nesou celou řadu antigenních determinant. Proti nim se tvoří v hostitelském organismu specifické antitoxické protilátky. Množství antitoxinu se vyjadřuje v antitoxických jednotkách – Unitas Antitoxica UA. Důležitou vlastností toxinů je možnost jejich transformace v toxoid. **TOXOID** je molekula toxinu, která ztratila svou toxicitu, ale její antigenní vlastnosti jsou zachovány. Toxoid většinou vzniká spontánně nebo je možné změnit výchozí molekulu chemicky. Dále stimuluje tvorbu antitoxických protilátek, a proto je úspěšně využíván ke specifické prevenci a k aktivní imunizaci proti záškrtu a tetanu. Průkaz schopnosti bakteriálního kmene tvořit toxin – toxigenita, se prokazuje indikátorovými systémy nebo sérologickými metodami.

Endotoxiny – lipopolysacharidový komplex

Složení endotoxinů velmi úzce souvisí se stavbou buněčné stěny u gramnegativních bakterií. Lipopolysacharidový komplex je uložen pod peptidoglykanovou vrstvou a vrstvou fosfolipidů, je to biologicky aktivní složka buněčné stěny. Tento komplex brání vstupu těžkých kovů, žlučových kyselin a větších molekul do bakteriální buňky. Biologická aktivita se může projevit pouze tehdy, když se uvolní lipopolysacharid ze zevní membrány. **Uvolňuje se s rozpadem gramnegativní bakteriální buňky.**

K masivnímu zaplavení organismu endotoxinem dochází při rozpadu bakterií účinkem vlastních autolytických enzymů (např. u meningokokémie), v důsledku cytolýzy komplementem a účinkem membránově působících antibiotik. Endotoxin se uvolňuje do krevního oběhu z různých primárních ložisek gramnegativní flóry, ale nejčastěji při perforaci střeva, popáleninách, obstrukcích močového traktu, infekcích žlučníku. K nejčastějším druhům bakterií, produkujících endotoxin, patří enterobakterie – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, z anaerobních bakterií *Bacteroides fragilis*. Reakce organismu na endotoxin je závislá na množství uvolněného endotoxinu. V nízkých dávkách v interakci s B lymfocyty, neutrofilními leukocyty, makrofágy a komplementovým systémem vyvolávají horečku, vasodilataci, zvýšenou syntézu protilátek a zánětlivou reakci. Při vysokých dávkách uvolňujícího endotoxinu dochází k intravaskulární koagulopatii a endotoxinovému šoku s rizikem letálního konce.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

5 Základy a principy vyšetřovacích metod v mikrobiologii

Diagnostika v lékařské mikrobiologii je zaměřena na stanovení etiologie a potvrzení příslušné diagnózy.

Správný diagnostický závěr mikrobiologického vyšetření a zahájení včasné terapie antibiotiky lze provést pouze v případě správného odběru biologického materiálu a vhodně zvolených vyšetřovacích metod.

K základním vyšetřovacím metodám patří **přímá diagnostika** – mikroskopický průkaz, kultivace, biochemický průkaz, stanovení citlivosti k antibiotikům a metoda PCR (polymerázová řetězová reakce).

Mikroskopický průkaz bakterií se provádí imerzním objektivem mikroskopu.

U některých typů bakterií, např. spirochét (treponemy, borrelie) se provádí pozorování **v temném poli** neboli **v zástinu**. **Fluorescenční mikroskop** slouží k diagnostice zejména u sérologických reakcí ve virologii stejně tak **elektronový mikroskop**.

Pro mikroskopickou diagnostiku je velmi důležitá příprava preparátů. Nejjednodušší metodou je příprava nativního preparátu – mikrobiální suspenzi vytvoříme smícháním infekčního agens s fyziologickým roztokem (v parazitologii – např. *Trichomonas vaginalis*, v mykologii – např. kvasinky). Preparát se připravuje na podložní sklíčko, u nativních preparátů se kryje krycím sklíčkem, ostatní preparáty barvíme různými barvicími technikami.

K základnímu barvení v bakteriologii patří **barvení podle Grama**. Výsledkem barvení jsou **grampozitivní** (tmavěmodré - tmavěfialové) a **gramnegativní** (růžově fialové) bakterie. V diagnostice má identifikace bakterií velký význam zejména pro zahájení včasné a správné antibiotické terapie.

Nejvirulentnější jsou bakterie v opouzdřeném stádiu růstu, protože pouzdro jim zajišťuje ochranu před antibiotiky, dezinfekcí i samotným imunitním systémem člověka. Pouzdra jsou velmi dobře patrná pod mikroskopem po obarvení **Burriho metodou**, např. u *Streptococcus pneumoniae* nebo *Klebsiella pneumoniae*.

Barvení podle Ziehl-Neelsena nám umožňuje zobrazit a odlišit acidorezistentní tyčky mykobakterií (zelené pozadí a ostatní elementy a růžová mykobakteria ve svazečkách).

Další barvicí techniky využívají pro pozorování ve fluorescenčním mikroskopu barviva, např. fluorescein (žlutozelený), auramin (zlatožlutý) nebo rhodamin (červený).

V parazitologii se využívá barvení podle Giemsy - jádra parazitů mají karmínovou barvu, ostatní elementy jsou bleděmodré. Často však využíváme nativních preparátů.

Jedním z dalších kroků v diagnostice je **kultivace v laboratorních podmínkách**. Provádí se na kultivačních půdách se speciálním složením a v podmínkách velmi podobných prostředí lidského organismu. Pro optimální růst bakterií je nutné zajistit dostatek vhodných živin, vlhkost, optimální pH, teplotu (optimální pro lidské patogeny je 37 °C), délka kultivace – 18-20 hodin, atmosféra (dle vztahu mikrobů ke kyslíku – aerobní a fakultativně anaerobní, anaerobní a mikroaerofilní).

Identifikace pomocí **biochemických testů** je založena na biochemické aktivitě jednotlivých druhů patogenů. Nejvíce aktivní jsou **enterobakterie**, dobře se identifikují biochemickými testy (např. štěpení glukózy, laktózy, manitolu, tvorba indolu, štěpení urey atd.).

Stanovení citlivosti k antibiotikům metodami kvalitativními i kvantitativními patří neodmyslitelně k základním diagnostickým postupům v lékařské mikrobiologii.

Kvalitativní testy – difuzní disková metoda patří k nejvíce používaným metodám stanovení citlivosti k antibiotikům. Metoda není vhodná pro použití u klinicky závažných stavů (meningitíd, sepsí, endokarditíd, u stavů se sníženou imunitní schopností – AIDS, transplantace, neoplastické procesy, popáleniny).

Kvantitativní testy - se využívají ke stanovení citlivosti k antibiotikům v tělních tekutinách u závažných stavů. Pomocí tzv. dilučních metod je možné stanovit **MIC (minimální inhibiční koncentrace)** a **MBC (minimální baktericidní koncentrace)**.

MIC (minimální inhibiční koncentrace) je taková koncentrace antibiotika, která zastaví růst a množení mikroorganismů.

MBC (minimální baktericidní koncentrace) je taková koncentrace antibiotika nebo chemoterapeutika, která přímo usmrtí mikroorganismy.

Kvantitativní testy stanovujeme citlivost k antibiotikům u všech mikroorganismů izolovaných z tělních tekutin - plazma, likvor, moč. Provedení těchto metod musí probíhat ve sterilních podmínkách za přísného dodržování předepsaných standardů.

Výsledek tohoto vyšetření slouží především k zahájení **cílené terapie antibiotiky** ve správných dávkách a dostatečně dlouhou dobu.

Nepřímá diagnostická metoda – **aglutinace** pro průkaz přítomných antigenů u mikroorganismů. Vhodná je zejména při identifikaci salmonel nebo escherichií.

Molekulárně – genetické metody (PCR) patří v posledních letech k nejmodernějším i nejrychlejším metodám v mikrobiologické diagnostice. Polymerázovou řetězovou reakcí se detekuje DNA mikroorganismů, což je velmi přesné.

Nepřímá diagnostika se provádí sérologickými metodami – stanovení přítomnosti protilátek v séru pacienta, příp. detekce přítomného antigenu příslušného patogena.

Organismus reaguje vždy na vniknutí cizorodého antigenu imunitní reakcí – vždy nejdříve nespecifickou imunitní reakcí a posléze specifickou imunitní reakcí (tvorbou protilátek, tzv. imunoglobulinů).

Sérologickou reakci lze využít k detekci antigenu nebo protilátek.

Základní metodou je **aglutinace nepřímá** nebo **přímá** a **hemaglutinačně inhibiční test** (antigen je navázán na erytrocyty). Výsledkem této reakce je komplex antigen - protilátka, který je viditelný pouhým okem jako sraženina.

Imunodifuze je metoda, která se používá k vzájemné reakci solubilního (rozpuštěného) antigenu s protilátkou. Reakce je viditelná na agaru jako precipitační linie.

Komplement – fixační reakce (vazba komplementu) se používá k detekci protilátek u akutní fáze infekčního onemocnění. Podstatou je vazba komplementu na komplex antigen – protilátka.

Imunofluorescence je metoda sloužící ke stanovení antigenu nebo protilátek značených fluorescenčním barvivem, např. fluoresceinem (žlutozelený), auraminem (zlatožlutý) nebo rhodaminem (červený).

RIA – Radioimmuneassay využívá ke kvantitativnímu stanovení např. hormonů, imunoglobulinů a léků. Antigeny jsou obvykle značené radioaktivním jodem.

ELISA – Enzyme linked immunosorbent assay (enzymová imunoanalýza) metoda, která využívá k detekci protilátek nebo antigenů značení enzymy.

5.1 Hodnocení výsledků mikrobiologického vyšetření

Při celkovém hodnocení výsledků mikrobiologického vyšetření je nutná spolupráce klinika, mikrobiologa a epidemiologa.

V bakteriologii hodnotíme výsledky mikroskopického vyšetření. Toto vyšetření slouží v řadě případů jako orientační vyšetření, ale např. při identifikaci anaerobních bakterií (výrazné rozdíly v morfologii) nebo hodnocení MOP (mikrobních obrazů poševních) je to vyšetření stěžejní.

Kultivace bakterií – hodnotíme růst (M fáze – mukózní virulentní např. u *Streptococcus pneumoniae*, S fáze hladká – nevirulentní, R fáze drsná suchá – nevirulentní), tvar kolonií, barvu, zápach, tvorbu hemolýzy na krevním agaru (*Streptococcus pyogenes* – betahemolytický sk. A).

Následují výsledky biochemických testů – vhodné zejména u enterobakterií a výsledky citlivosti k antibiotikům, kdy musíme vždy brát v úvahu hlavně přirozenou rezistenci jednotlivých patogenů in vitro, akceptovat to a zohlednit ve výsledcích antibiogramu. Četná antibiotika mají stejný účinek na testovaný druh bakterie, proto k testování in vitro můžeme použít jednoho zástupce antibiotik z dané skupiny.

Molekulárně – genetickými metodami (PCR) se stále častěji detekují různé lidské patogeny způsobující infekční onemocnění. Využívají se hlavně pro svou rychlost, ale je potřeba při hodnocení mít na zřeteli i veškeré vedlejší vlivy, které by mohly výsledek tohoto vyšetření ovlivnit. Jsou to velmi citlivé metody a musí je provádět dostatečně vyškolený zdravotnický personál.

Pomocí sérologických diagnostických metod hodnotíme přítomnost antigenu daného patogena nebo tvorbu protilátek kvalitativně i kvantitativně.

Přítomný antigen svědčí také o probíhající infekci, např. detekce antigenu *Streptococcus pneumoniae* nebo *Legionella pneumophila* v moči. Detekujeme protilátky ve třídě IgM (marker akutní fáze infekce, může přetrvávat několik týdnů i měsíců – borelióza, HSV, EBV, CMV, VZV, hepatitidy A, B), ve třídě IgG (marker prodělané infekce - borelióza, HSV, EBV, CMV, VZV, hepatitidy atd.) anebo jsou to protilátky po vakcinaci – parotitída, morbilli, pertussis, hepatitída A nebo B, rubeola), IgA (marker akutní fáze infekce např. u infekce *Mycoplasma pneumoniae*).

U toxoplasmózy stanovujeme kromě IgM, IgG a celkových protilátek TOX – metodou nepřímé imunofluorescence jak protilátky ve třídě IgA a IgE, tak aviditu IgG protilátek.

Avidita IgG protilátek vyjadřuje vazební sílu mezi protilátkami a antigenem infekčního agens. Její hodnota svědčí o nedávno prodělané nebo probíhající infekci (tvorba nízkoaviditních protilátek) anebo o velmi dávno proběhlé infekci (tvorba vysokoaviditních protilátek). Na začátku infekčního onemocnění v akutní fázi je slabá vazebná síla protilátek – nízká avidita.

5.2 Správná Interpretace výsledků mikrobiologického vyšetření

Výsledek jakéhokoliv mikrobiologického vyšetření hodnotíme vždy současně s klinickým nálezem. Jeden odběr, ať je to výtěr, odebrané sérum, likvor nebo jiný biologický materiál je pro optimální hodnocení a interpretaci mikrobiologického vyšetření nedostačující. Vždy je potřeba provést **alespoň 2 odběry i více**. Odběry vzorků se provádějí na začátku onemocnění (u bakteriálního onemocnění nejlépe vždy před zahájením ATB terapie) a další odběr následuje cca za 14 dnů a déle (nejlépe opět po ukončení terapie a po obnově běžné fyziologické flóry). U výsledků bakteriologického vyšetření je potřeba odlišit nález běžné fyziologické flóry v organismu od přítomnosti patogenů.

U sérologických vyšetření začíná tvorba IgM protilátek po vniknutí mikroba do lidského organismu. Tvorba protilátek vrcholí asi ve 2-6 týdnech od začátku onemocnění a je znakem akutní fáze infekce. Lidský plod si IgM protilátky začíná vytvářet těsně před porodem a je to hlavní druh protilátek, které si sám vytváří. V případě, že po porodu nacházíme v krvi novorozence vysoké hladiny IgM protilátek, je velmi pravděpodobné, že novorozenec prodělal infekci během intrauterinního vývoje.

Tvorba IgG protilátek převažuje v plasmě asi po 10 dnech od začátku onemocnění. Ve výsledcích vyšetření se interpretuje jako anamnestická hladina protilátek po prodělané infekci nebo po očkování.

Protilátky IgG jako jediné procházejí transplacentárně v posledních 4-6 týdnech těhotenství a při interpretaci výsledků je potřeba na to vždy myslet. Hladiny protilátek po porodu u novorozence jsou vždy přímo úměrné gestačnímu věku. Dítě narozené dříve než ve 32. týdnu těhotenství má vždy hladinu imunoglobulinu extrémně nízkou, a proto je vnímavější k infekcím. Teprve kojenec začíná tvořit vlastní IgG protilátky.

IgA protilátky se vyskytují ve dvou formách – v plasmě a v sekretech na sliznicích, ve slinách, v slzách. Jsou obrannou linií proti mikroorganizmům a zajišťují lokální imunitu. Jsou přítomny v mateřském kolostru a dítěti zabezpečují lokální imunitu respiračního a gastrointestinálního traktu.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

6 Obecná mikrobiologie

Mezi mikroorganizmy a lidským organismem je velice blízký vztah. Když se podíváme do historie vzniku Země, zjistíme, že první prokaryotické (prvojaderní) buňky vznikly již 1 miliardu let po vzniku naší planety (naše Země vznikla před 4,5 miliardami let). Bakterie patří mezi prokaryota. Teprve před 1,5 miliardou let se objevila buňka eukaryotní (jaderní) a před 0,6 miliardou let začaly vznikat mnohobuněčné organizmy.

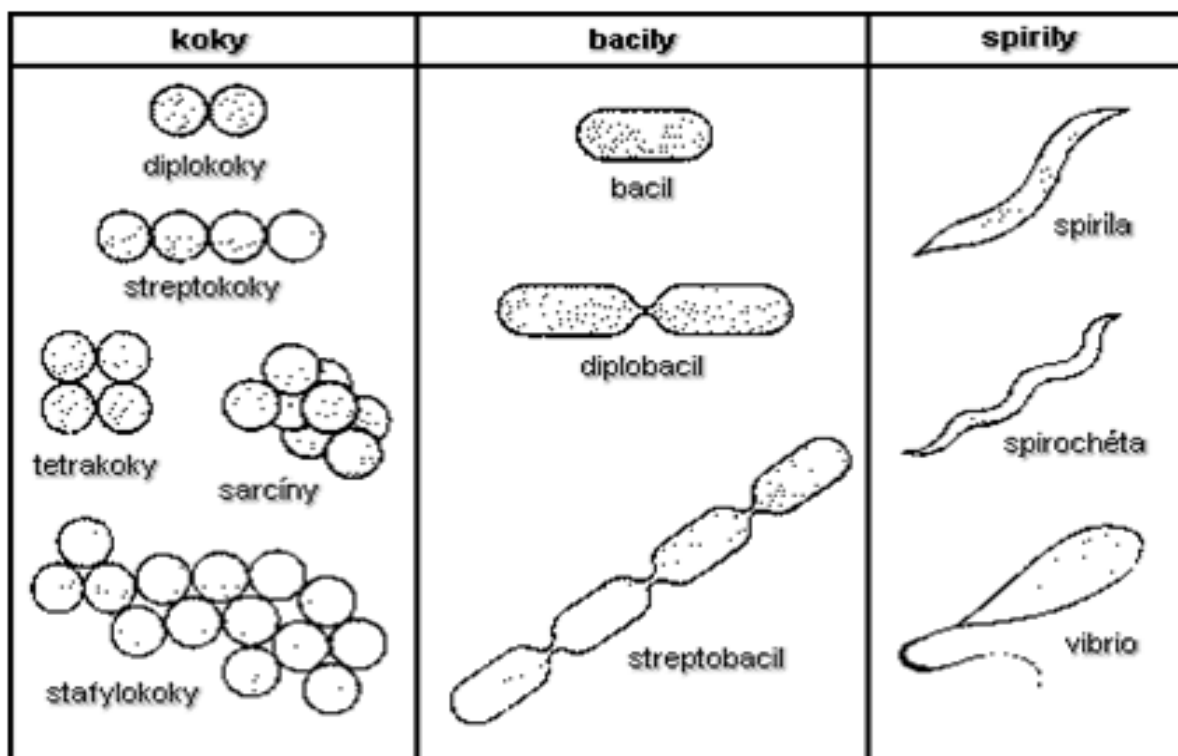
Obecná mikrobiologie popisuje postavení bakterií, virů, plísní a parazitů v živé přírodě. Dále popisuje jejich vlastnosti, stavbu, růst a množení, genetiku mikroorganismů, metabolismus, patogenitu a virulenci a v neposlední řadě hlavně vztah k lidskému organismu. Do první skupiny patří tzv. **komezálové** osídlující povrchy lidského těla (kůži, sliznice). Označujeme je jako běžnou fyziologickou flóru. Další typ mikroorganismů představují symbionti,

charakteristické je společné soužití dvou živých organizmů, které je vzájemně prospěšné. Saprofyty jsou mikroorganismy žijící s makroorganizmem vedle sebe bez vzájemného poškozování, živiny poskytují zplodiny makroorganizmu. Do druhé skupiny patří **patogenní mikroorganismy**, lidský organismus mohou poškozovat buď přímo, nebo produkcí toxinů. Do třetí skupiny patří pak tzv. **potenciálně patogenní (oportunní) mikroorganismy**, které ve svém prostředí nezpůsobují poškození buněk, pouze v případě zavlečení na jiné místo a v případě snížení obranyschopnosti makroorganizmu. Vztah hostitele a mikroorganizmu je ovlivněn jeho vlastnostmi a obranyschopností lidského hostitele. Systém ochranných bariér u člověka je daný obrannými mechanismy a jeho přirozenou imunitou. Primární ochrannou bariérou vůči infekci je kůže. Nepoškozená, složená z vnější vrstvy keratinizovaných buněk a epidermis, je pro mikroorganismy neprostupná. Postupné odlučování keratinizovaných buněk zbavuje kůži kontaminujících bakterií. Sliznice pokrývá vrstva hlenu, která brání kontaktu s mnoha patogeny. Horní část respiračního traktu pokrývá řasinkový epitel. Řasinky svým pohybem zbavují sliznici respiračního traktu zachycených bakterií. Fyziologické funkce jako kýčání, kašel, průjem a zvracení velmi účinně přispívají k vylučování velkého množství bakterií. Chemické bariéry – slzy, sliny a jiné sekrety sliznic se také velmi účinně podílejí na vylučování mikroorganismů. Enzym lysozym obsažený ve slinách a slzách účinně rozkládá buněčnou stěnu bakterií. Pro úplnost sem patří imunologické bariéry, které chrání lidský organismus na úrovni buněčné a humorální. Člověk je od svého narození trvale obklopen mikroorganismy a hned po narození dochází k postupnému osídlování kůže, nosu, ústní dutiny, trávicího traktu a genitálií. Běžná fyziologická flóra tvoří jednu z přirozených ochranných bariér lidského organismu. K těm dalším patří sliny, slzy, pot a moč.

K oslabení primárních obranných mechanismů může dojít různými způsoby, např. přímým poškozením fyzikálním, chemickým, poraněním, systémovým onemocněním, léky nebo toxiny. Člověk ztrácí schopnost bojovat proti infekci, když je porušena fyziologická obrana i v případě, že je virulence mikroorganizmu nízká. Různé biologické vlastnosti a různá velikost charakterizují patogenní mikroorganismy. Řada z nich má schopnost získávat živné látky z neživého prostředí a lze je kultivovat na neživých půdách. Jiné nejsou schopné růst mimo živého hostitele, množí se a rostou pouze v hostitelské buňce, jsou vlastně nitrobuněčnými parazity. Patogeny můžeme rozdělit do čtyř hlavních skupin: bakterie, viry, parazité a fungi. Blíže se budeme zabývat jejich charakteristikou a vlastnostmi v jednotlivých kapitolách.

6.1 Bakteriální buňka a její vlastnosti

Bakteriální buňka se liší na základě pozorování, která byla provedena, od ostatních buněk rostlinných a živočišných, jednodušší vnitřní strukturou. Bakterie jsou však složitější než viry a většinu z nich můžeme pozorovat ve světelném mikroskopu. Rozpustná cytoplasma obsahuje další 4 struktury – orgány: jádro – nukleotid, ribosomy, cytoplasmatickou membránu a buněčnou stěnu. Bakterie jsou buňky prokaryotní. Prokaryota jsou jednobuněčné organismy, nikdy netvoří funkčně a morfologicky diferencované tkáně, ale mohou tvořit kolonie. Bakterie jsou také buňky menší než buňky živočišné nebo rostlinné. Bakterie obsahují DNA i RNA. Rozmnožují se dělením. Většina bakterií je schopná růst nezávisle na hostiteli, a proto je také můžeme kultivovat na umělých kultivačních médiích. Tvarová rozmanitost je malá – většinou to jsou tyčinky nebo koky případně kokobacily anebo mají tvar spirálovitý (spirochéty, vibria), ale i přesto je morfologie bakterií důležitá pro klasifikaci bakterií a má také diagnostický význam.



Obr. Tvary bakterií

Obrázek 10 Tvary bakterií

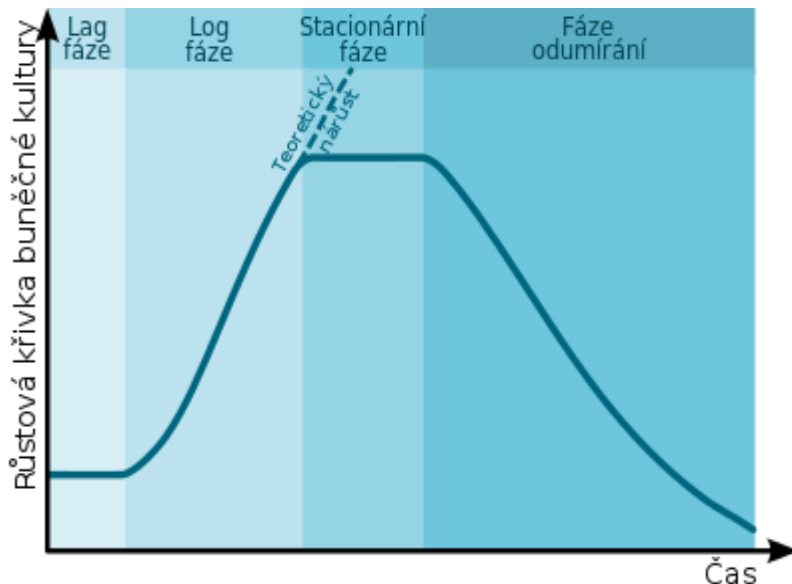
Zdroj: <http://www.osetrovatelstvi.eu/index.php/zeh/12-zeh/63-obecna-mikrobiologie>

V mikroskopickém obraze lze pozorovat uspořádání vycházející ze způsobu dělení. Nacházíme jednotlivé buňky nebo pravidelné skupiny dvou (diplokoky) i více buněk (např. uspořádání v hroznech – stafylokoky nebo v řetězcích – streptokoky). Co se týče složení bakterií z hlediska obsahu biogenních prvků, jsou to např. kyslík, uhlík, dusík, vodík, fosfor, síra, draslík, sodík, kalcium, magnézium, chlor, ze stopových prvků to jsou železo, kobalt, měď, zinek, bor, mangan, křemík, selén, chlor a další. Z vlastností bakteriální buňky je v popředí a v diagnostice původců infekčních onemocnění využíváme především schopnost bakteriální buňky vázat některá barviva. Základním barvením je barvení podle Grama, opíráme se o rozdílnou strukturu buněčné stěny. Gramovo barvení je jednoduchá metoda, která využívá anilínové barvy (postup barvení - krystalová violet, Lugolův roztok, alkohol, karbolfuchsin). Podle výsledku barvení pak dělíme bakterie na grampozitivní, barví se krystalovou violetí (v mikroskopu – modré až modročerné) a gramnegativní bakterie, které se kompletně odbarví alkoholem a vážou karbolfuchsin, proto se jeví jako růžově - červené až červené. Acidorezistentní (kyselinovzdorné) bakterie, nereagují na Gramovo barvení, např. původce tuberkulózy (mykobakterie). Pro tyto druhy bakterií používáme jiné typy barvení – např. barvení dle Ziehl – Neelsena. Barvit můžeme i bakteriální pouzdro barvicí Burriho metodou. Tato metoda je důležitá zejména u patogenů ve virulentní fázi s bakteriálním pouzdem. Barvíme tuší, takže výsledné obarvení pouzder je černé – např. u *Streptococcus pneumoniae* nebo *Klebsiella pneumoniae*.

6.2 Růst a množení bakterií

Růst bakterií je závislý na nutričních podmínkách obsažených v prostředí. Pro základní růst bakterií je důležitý kyslík. Jeho nedostatek omezuje velmi výrazně růst aerobních bakterií.

Naopak jeho přítomnost omezuje a potlačuje růst anaerobních bakterií. Dostatečná koncentrace oxidu uhličitého, anorganické ionty (fosfor, dusík, hořčík) a organické sloučeniny (aminokyseliny, sacharidy a vitamíny) jsou velmi důležité pro mnohé bakterie. Všechny bakterie zvětšují svůj počet a hmotnost exponenciálním způsobem. Charakter růstu bakterií vyjadřuje růstová křivka. Bakterie se množí v optimálních podmínkách ve čtyřech fázích, které na sebe navazují.



Obrázek 11 Fáze růstu bakterií

Zdroj: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Bacterial_growth_cs.svg

- 1. fáze latence** – lag fáze je charakterizovaná fyziologickou adaptací na změněné podmínky prostředí, ve kterém dochází po určité době ke zvětšování objemu a hmotnosti buňky, stabilizuje se vlastní intracelulární prostředí.
 - 2. fáze logaritmická** – exponenciální, je obdobím, kdy probíhá maximální rychlost dělení buněk a zvyšuje se buněčná hmota. Generační doba může být různě dlouhá podle bakteriálního druhu od 20 minut do několika hodin.
 - 3. fáze stacionární** – je typická vyčerpáním živin a dochází k rovnováze mezi buněčným růstem, dělením a smrtí buněk.
 - 4. fáze odumírání** – konečná, stacionární – odúmrt' buněk je charakteristická bakteriální lýzou a buněčnou destrukcí. Zároveň se také redukuje počet buněk a v převaze jsou mrtvé bakteriální buňky nad živými bakteriálními buňkami.
- Růst bakteriálních buněk je závislý na množství a složení živin v prostředí a na teplotě prostředí, dále je řízený také intracelulárně aktivitou enzymatických systémů.

Růstové disociační fáze:

Tyto fáze charakterizují růst bakteriálních buněk na pevných kultivačních půdách.

M fáze (mucose) – mukózní – jedná se o virulentní stádium s plnou antigenní výbavou u bakterií. Bakterie jsou opouzdřené, tudíž jsou velmi odolné vůči antibiotické terapii a dezinfekčním prostředkům. Kolonie bakterií jsou vypouklé, lesklé a mukózní.

S fáze (smooth) hladká je charakteristická plnou antigenní výbavou, bakterie nejsou virulentní a nedisponují pouzdrem. Povrch kolonií je hladký a není vypouklý.

R fáze drsná je typická ztrátou antigenní výbavy a drsným suchým povrchem bakterií. V tomto stádiu jsou mikroorganismy nevirulentní.

6.3. Metabolismus bakterií

Pro život nutnou energii získávají bakterie při tzv. energetickém (katabolickém) metabolismu. U bakterií je rozhodující metabolismus fermentativní, oxidační (respirační) a autotrofní. Glykolýza je hlavní fermentační proces využívaný bakteriemi, jeho podstatou je přeměna glukózy na pyruvát. Bakterie tím získávají energii v podobě adenosintrifosfátu – ATP. V sekundárním fermentačním procesu bakterie využívají pyruvát. Výsledkem tohoto složitého procesu je tvorba vodíku, oxidu uhličitého a metanu, jako příklad můžeme uvést mléčné a alkoholové kvašení. Během respiračního metabolismu bakteriální buňka získává energii v oxidačním procesu za přítomnosti respiračních enzymů. Oxidací bakterie získávají mnohem víc energie než fermentací. Metabolismus autotrofní využívá různé alternativní anorganické zdroje energie. Jedním ze základních procesů je fotosyntéza. Bakterie využívají energii světla pro přeměnu CO₂. Anorganické látky využívají pro anaerobní respiraci. Anabolický metabolismus představuje biosyntéza. Hlavní funkcí buňky mikroorganismu je růst a zvyšování počtu všech bakteriálních buněk je pro růst charakteristické.

Výsledky metabolických pochodů v bakteriálních organizmech slouží především k identifikaci bakteriálních druhů. V popředí je hlavně závislost bakterií na kyslíku. Aerobní bakterie vyžadují kyslík pro svůj řádný růst a množení. Naproti tomu anaerobní bakterie kyslík netolerují, rostou pouze v nepřítomnosti kyslíku. Fakultativně aerobní nebo anaerobní bakterie rostou za přítomnosti i bez kyslíku. Dalším diagnostickým krokem bývá využití neboli utilizace sacharidů. Druhy bakterií můžeme určovat podle toho, jaké sacharidy využívají jako zdroj energie. Bakterie produkují také řadu enzymů. Identifikace produkovaných enzymů nám umožňuje třdit jednotlivé druhy bakterií, které mají společnou tuto vlastnost.

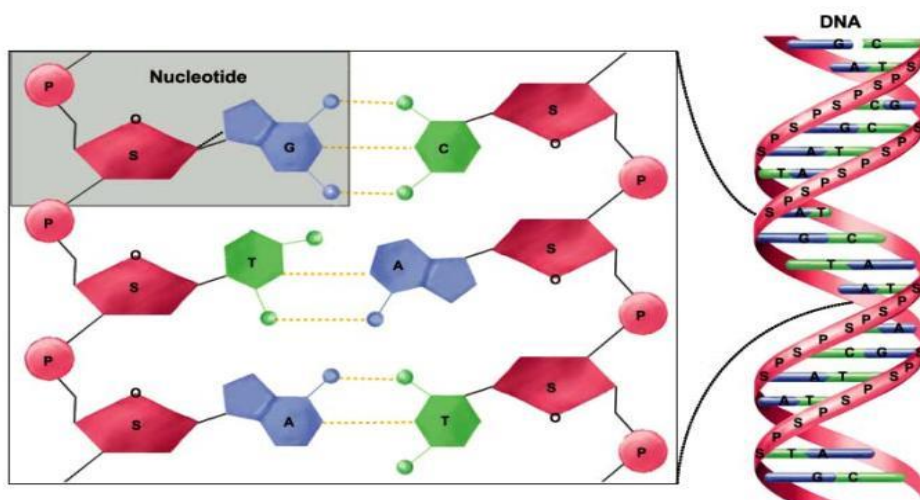
K základním enzymům patří tzv. oxidační nebo detoxikační enzymy – kataláza (peroxidáza) štěpí peroxid vodíku, oxidáza napomáhá při oxidačních procesech. Skupina proteolytických enzymů zahrnuje hemolyziny, které porušují membránu červených krvinek. Alfa-hemolyziny porušují membránu erytrocytů, ale nerozpouštějí ji, naproti tomu beta-hemolyziny membránu erytrocytů porušují a rozpouštějí. Proteáza štěpí bílkoviny, kolagenáza je enzym rozrušující kolagen a koaguláza vyvolává přeměnu fibrinogenu na fibrin. Neurotoxiny působí na funkci centrálního i periferního nervového systému, např. botulotoxin ovlivňuje periferní nervový systém, difterický toxin zase blokuje syntézu bílkovin (následkem je nekróza srdeční a nervové tkáně). Tetanospazmin svým účinkem na centrální nervový systém vyvolává spasmus – křeče např. stafylokokový enterotoxin působí ve střevě na nervová zakončení a vyvolává průjem a zvracení. Hlavní funkcí metabolismu je pak syntéza makromolekul. Makromolekuly jsou tvořeny z jednotek – proteiny z aminokyselin, nukleové kyseliny z nukleotidů, polysacharidy z jednoduchých cukrů, lipidy z glycerolu a jiných alkoholů a mastných kyselin. Jednoznačně k hlavním energetickým zdrojům bakterií patří adenosin trifosfát – ATP. Pořadí jednotek v makromolekule je určené dvěma způsoby:

1. DNA řídí obě nukleové kyseliny, tzn. řídí vlastní syntézu a syntézu různých typů RNA.
2. RNA řídí pouze syntézu proteinů.

Genetika bakterií

Jedním ze základních pojmů v genetice představuje genetická informace. DNA – desoxyribonukleová kyselina je tvořena chromozomy a geny. Nositel genetické informace je chromozom, kde je uložena informace o typu bakteriální buňky.

Struktura bakteriálního chromozomu je daná jednou molekulou deoxyribonukleové kyseliny, dvoušroubovicí.



Zdroj www.wikiskripta.eu
Obrázek 12 dvojšroubovice DNA

Chromozom je uzavřený útvar a má cirkulární tvar. Dalším procesem – replikací chromozomu dochází k velmi přesnému vytvoření dceřiné buňky - kopie mateřské buňky. Replikace chromozomu je řízena tak, aby docházelo ke koordinaci s buněčným dělením. Geny jsou sérií jednotek DNA, kde je zakódovaná genetická informace. Bakterie jsou vlastně haploidní organizmy (mají pouze jednu sadu chromozomů), protože chromozom kóduje pouze jednu kopii každého genu. Fenotyp je soubor všech zevních znaků a vlastností organismu kromě genotypu. Je funkcí genu a také výsledkem vzájemného působení mezi genotypem a vnějším prostředím. Genotyp je soubor genetických faktorů v organismu, je to genová charakteristika jedince.

Bakterie, tím že jsou haploidní (mají pouze jednu sadu chromozomů), využívají pro přenos genů různé primitivní organizmy. Vznik diploidních buněk (mají dvě sady chromozomů) zaručují všechny tyto mechanismy. Přenos genetické informace je nejefektivnější mezi buňkami stejného druhu.

Způsoby transferu (přenosu):

1. Transformace – je proces, při kterém uvolněnou část DNA přijímá určitá buňka od buňky dárcovské a je to také metoda pro mapování genů. K transformaci dochází u bakteriálních buněk gramnegativních i grampozitivních.
2. Transdukce je proces zprostředkovaný bakteriofágy a tady dochází k pouze k přenosu určitých fragmentů chromozomů.
3. Konjugace je jednosměrný přenos genů do buňky příjemce z buňky dárcovské pomocí kontaktu mezi dvěma buňkami.
4. Extrachromozomální elementy – plazmidy umístěné v cytoplasmě bakterií jsou velmi často nositeli genů důležitých pro adaptaci, obranu (rezistenci na antibiotika) a pro tvorbu antigenů.

Heterogenita genů je způsobena dvěma hlavními pochody – mutacemi a genetickou rekombinací. Mutace je definovaná jako změna genetické informace, která vzniká nebo je vyvolaná spontánně změnou v sekvencích nukleotidů v DNA. Mutace vyvolávají změny v morfologii, v enzymatické aktivitě, v nutričních požadavcích, ve vnímavosti k antibiotikům nebo ve vnímavosti k infekcím vyvolaných bakteriofágem. K mutagenům řadíme fyzikální jevy (záření) nebo chemické látky, které způsobují změny v DNA a vedou následně k mutacím. Dalším procesem na molekulární úrovni je genetická rekombinace, při které dochází ke kombinaci DNA buňky příjemce a dárcovské buňky a vzniká nový genom obsahující genetickou informaci z obou zdrojů.

Nejnovějším trendem je genetická manipulace s bakteriemi. Geny lze nově uspořádat uvnitř bakteriální buňky pomocí nových technik. Tímto způsobem pak probíhá proces rekombinace mezi molekulami DNA z různých zdrojů. Jedná se o metody genového inženýrství. Velmi zajímavá je metoda molekulárního klonování, při které se určitý segment DNA umístí do plasmidu nebo do bakteriofágu a pomocí něho se přenese do cizorodé buňky, kvasinky, bakterie. Buňky mikroorganismů začínají produkovat klony cizí DNA. Klon je definovaný jako soubor jedinců vzniklých z jediné původní buňky.

Bakteriofágy, zkráceně fágy charakterizujeme jako speciální skupinu virů parazitujících v hostitelské bakteriální buňce a jsou využívány pro laboratorní mikrobiologickou diagnostiku. Každý známý typ bakterie slouží jako hostitel pro jednoho nebo více bakteriofágů. Hlavou a bičíkem jsou tvořené jednotlivé partikule fágů. Fágový bičík je složený ve většině případů ze tří částí. Pod hlavou je dutá dřeň, potom následuje kontraktilní pochva ukončená bazální destičkou s tzv. bičíkovými vlákny. Hlava fágu obsahuje nejčastěji nukleovou kyselinu – DNA, někdy to může být i RNA, která je obklopená kapsidou – proteinovým obalem. Pomocí fagotypizace rozlišujeme bakteriální druhy na fagotypy. Kmeny se stejným epidemiologickým vztahem patří k jednomu fagotypu. Získané informace využíváme zejména pro epidemiologické šetření, např. při epidemiologických střevních infekcích.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

7 Nozokomiální nákazy a antibiotická rezistence

Proti působení patogenních bakterií lze používat fyzikální nebo chemické metody a prostředky. Antibiotika patří původně k látkám mikrobiálního původu a používají se pro léčbu infekcí. Rozvoj antimikrobní léčby byl zaznamenán teprve během druhé světové války, kdy byl plně využit triumfální objev Alexandra Fleminga z roku 1928. Účinek plísně *Penicilium notatum* v roce 1928 Alexandrem Flemingem byl obrovský objev a úspěch v medicíně. Skutečný obrat v antiinfekční terapii znamenal zavedení antibiotik do léčebné terapie ve čtyřicátých a padesátých letech minulého století.

Antibiotika rozdělujeme do několika skupin podle mechanismu jejich působení na bakteriální buňku.

Mechanismy účinku antibiotik

A) inhibice syntézy buněčné stěny bakterií



peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy, karbapoenemy, vankomycin, bacitracin

B) změny permeability buněčné membrány

amfotericin B, azoly, polyeny, polymyxiny

C) inhibice syntézy proteinů

aminoglykosidy, chloramfenikol, makrolidy, tetracykliny, linkomycin

D) inhibice syntézy nukleových kyselin

sulfonamidy, trimetoprim, chinolony, rifampicin, pyrimetamin

Antibiotická rezistence

Jelikož je dnes antibiotická rezistence považována za závažnou globální hrozbu zdravotnímu stavu populace, musí se tomuto problému věnovat zvýšená pozornost. Za současnou zdravotnickou prioritu označila tento problém WHO a Evropská unie. V posledních přibližně 15 letech antibiotika rychle ztrácejí svojí účinnost, protože se stále objevují mikroorganismy, které jsou multirezistentní nebo zcela rezistentní ke všem známým antibiotikům. Antibiotická rezistence prokazatelně zvyšuje mortalitu, náklady na zdravotní péči a brání závažně dalšímu rozvoji technologicky orientované medicíny. K nejvíce ohroženým oddělením nemocničními nákazami způsobenými rezistentními mikrobiálními kmeny v nemocnici patří jednotky intenzivní péče, onkologická oddělení nebo transplantační oddělení. Velice důležitá je proto kontrola infekcí v nemocnicích, správné dávkování antibiotik a důkladná surveillance. Příčinou antibiotické rezistence je nesprávné používání a především nadužívání antibiotik, a to nejen v humánní, ale i veterinární medicíně.

Nozokomiální nákazy

Nemocniční (nozokomiální) nákazou se rozumí nákaza exogenního i endogenního původu, která vznikla v příčinné souvislosti s pobytem osob ve zdravotnickém zařízení (ústavní i ambulantní části). Za nemocniční nákazu je považována i ta nákaza, která se projeví teprve po propuštění do domácí péče nebo po přeložení do jiného zdravotnického zařízení.

Důležité je zjistit místo přenosu NN, nikoli místo, kde je nákaza zjištěna. Proto mezi NN nepatří ty infekce, s kterými je pacient přijat a které se manifestují až v nemocnici. Tyto nákazy pokládáme za nákazy **zavlečené, mimonemocniční** a označují se CAI (community acquired infections)

Mezi nozokomiální nákazy neřadíme ani nákazy zdravotnického personálu, které u nich vzniknou při výkonu povolání. Pokládáme je za **profesionální nákazy** zdravotnického personálu.

Důležitou roli hraje v procesu šíření nozokomiálních nákaz zdravotnický personál jako účastník přenosu nákazy (kontaminované ruce) i jako zdroj nozokomiálních nákaz pro pacienty.

Rozdělení nozokomiálních nákaz

Z epidemiologického hlediska rozdělujeme NN na:

- **nespecifické**
- **specifické**
- **exogenní**
- **endogenní**

Nespecifické NN

jsou nákazy, které zpravidla odrážejí epidemiologickou situaci ve spádové oblasti zdravotnického zařízení (respirační nákazy) nebo jsou ukazatelem hygienické úrovně



zdravotnického zařízení (alimentární nákazy). Šíření těchto nákaz probíhá v nemocnicích podobně jako v jiných kolektivech spádové oblasti, tj. v jeslích, školkách, školách, podnicích apod. Nicméně jejich průběh může být u pacientů oslabených základním onemocněním závažnější a prognóza horší než u jinak zdravých jedinců postižených v mimozdravotnických kolektivech.

Důležitým preventivním opatřením v této skupině je důkladná osobní a epidemiologická anamnéza při příjmu nemocného a striktní dodržování protiepidemického režimu ve zdravotnických zařízeních. Léčení většinou není problematické z hlediska té skutečnosti, že mikrobi přicházející v úvahu jako etiologické agens mají zpravidla charakter terénních mikrobiálních kmenů dobře citlivých na antibiotika.

Specifické NN

vznikají jako důsledek diagnostických a terapeutických lékařských výkonů u hospitalizovaných pacientů. Nejčastěji se šíří inokulací nebo implantací infekčního agens, méně často potom respirační nebo alimentární cestou. Jsou vázány na zdravotnická zařízení, která jediná splňují podmínky jejich vzniku. Tyto nákazy mají specifické epidemiologické aspekty, prevenci a terapii. Jejich výskyt ovlivňuje úroveň asepse, sterilizace a dezinfekce, úroveň dodržování zásad protiepidemického režimu a úroveň provozu zařízení.

Exogenní NN

označuje nákazy, kdy je infekční agens zaneseno do organismu zvenčí, např. vzdušnou cestou u vzdušných nákaz, proniknutím infekčního agens do organismu např. kontaminovaným vyšetřovacím nástrojem (endoskop) apod.

Endogenní NN

označuje nozokomiální nákazy, které vyvolá vlastní infekční agens pacienta zavlečené z kolonizovaného místa do jiného systému, rány, do serózních dutin apod. Toto zavlečení se uskutečňuje nejčastěji krví. K endogenní nákaze může dojít také vzplanutím infekce po celkovém oslabení organismu, např. po imunosupresivní léčbě nebo po ozáření. Charakteristické je, že etiologickým agens je mikroflóra v těle přítomná a obvykle nepatogenní. Endogenní nákazy nemají inkubační dobu, proti jejich původci nevzniká imunita.

Základní charakteristika epidemického procesu u NN

Proces šíření NN je podmíněn tak jako u každé nákazy třemi články:

- 1. existence zdroje původce nákazy**
- 2. uskutečnění přenosu původce nákazy**
- 3. přítomnost vnímavého jedince (pacienta)**

1. Zdroj původce NN

Zdrojem vzniklé NN může být pacient, zdravotnický personál, návštěvník či jiná osoba. Ve výjimečných případech může být rezervoárem nákazy půda (klostridiové nákazy apod.) nebo zvíře (salmonelózy). Původcem NN u pacienta může být buď jeho vlastní mikroflóra, která za určitých okolností aktivuje v organismu infekční proces (endogenní NN), nebo zdrojem může být jiný pacient, jehož mikroflóra je obsažená ve slinách, na ruce, v kapénkách vzduchu, v kontaminovaném prachu, na předmětech běžné potřeby, na vyšetřovacích nástrojích a pomůckách, na obvazovém materiálu, v moči, ve stolici, v krvi, ve sputu, v hnisu, ve

vaginálním a spojivkovém sekretu (exogenní NN). Zdravotnický personál se může stát zdrojem exogenní NN v případě vlastního onemocnění, kdy nedoceňuje nebezpečí zdánlivě banální nemoci, jako je lehká angína, faryngitida, drobné hnisavé kožní onemocnění, lehké průjmové postižení apod. Též návštěvník, který přichází do nemocnice, může být potenciálním zdrojem exogenní NN, a z tohoto důvodu někdy lůžková zdravotnická zařízení přikročují k regulaci návštěv. Příkladem přísného omezení nebo zákazu návštěv je zákaz návštěv na nedonošeneckých a resuscitačních odděleních v době chřipkových epidemií.

Ať již je zdrojem NN pacient, zdravotnický personál nebo návštěvník, mohou existovat dvě formy nákazy:

- manifestní forma onemocnění se zjevnými klinickými příznaky
- nosičství

Manifestní forma onemocnění je méně nebezpečná, pokud jde o možnost dalšího přenosu nákazy, neboť je dobře diagnostikovatelná a léčitelná. Nebezpečným zdrojem se mohou stát pacienti s atypickými formami nákazy, které nejsou včas rozpoznány a u nichž nejsou včas uplatněna protiepidemická opatření.

Nosiči jsou osoby, které přechovávají a vylučují infekční agens bez zjevných příznaků onemocnění. Mohou jimi být zdraví, asymptomatictí nosiči, nosiči v inkubační době, kteří jsou schopni se stát zdrojem nákazy před začátkem manifestního onemocnění, přičemž délka této doby je různá, nosiči v rekonvalescenci a chroničtí nosiči, u nichž infekční agens persistuje v organismu déle než rok. Všichni tito nosiči se mohou stát zdrojem nákazy pro své okolí a jsou zvláště nebezpeční proto, že oni sami nebo osoby, se kterými přicházejí do styku, si nejsou vědomi této možnosti. Nosičství může být krátkodobé nebo dlouhodobé, se soustavným, pravidelným nebo přerušovaným vylučováním. Proto není rozhodující jedinec s jedním pozitivním či negativním mikrobiologickým vyšetřením, ale je vždy nutno provést vyšetření opakované, se správnou technikou odběru a optimální laboratorní metodou.

2. Přenos původce NN

Přenosem nákazy se rozumí přenos infekčního agens ze zdroje nákazy na vnímavého hostitele. Rozlišujeme přímý a nepřímý přenos infekčního agens.

PŘÍMÝ PŘENOS

Dochází k němu přímým kontaktem (dotek, polibek, popř. sexuální styk). Důležitou roli při přímém přenosu hrají mikrobiálně kontaminované ruce zdravotnického personálu. Novorozenec se může infikovat při přímém styku se sliznicí vagíny během porodu. Další z vážných cest přímého přenosu NN je přenos kapénkami na krátkou vzdálenost. Nemůžeme vyloučit ani přenos alimentární cestou přes kontaminované ruce zdravotnického personálu, který často figuruje jako zdroj nákazy při přípravě mléčné stravy na oddělení novorozenců a kojenců.

NEPŘÍMÝ PŘENOS

Pravděpodobnost tohoto způsobu přenosu závisí na schopnosti mikroorganismu přežít dostatečně dlouhou dobu mimo tělo hostitele a na existenci vhodného vehikula, v němž dojde k pomnožení (někdy stačí pouhé přežití) etiologického agens a s jehož pomocí je přenesen původce nákazy na vnímavého hostitele.

Nepřímý přenos je zprostředkován kontaminovanými předměty a kontaminovanými diagnostickými a léčebnými pomůckami (obvazový materiál, vyšetřovací nástroje, prádlo, nádobí aj.), kontaminovanými jehlami a stříkačkami, kontaminovanými biologickými produkty

a léky (plazma, krevní konzervy, infúzní roztoky aj.), kontaminovaným vzduchem, kontaminovanou potravinou nebo vektory (mouchy, komáři, mravenci).

3. Vnímavý jedinec

O vnímavosti nebo rezistenci pacienta ke konkrétní nákaze rozhoduje řada faktorů. Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující klinickou odpověď patří infekční dávka, virulence a vstupní brána infekčního agens, věk jedince v době infekce, povaha a stupeň imunitní odpovědi, genetické faktory ovlivňující imunitní odpověď, výživový stav hostitele, základní onemocnění (diabetes mellitus, novotvary, nemoci ledvin, jater a kůže), imunosupresivní léčba, osobní návyky (kouření, alkohol, tělesná námaha), psychologické faktory (deprese, emoční stresy).

Při individuální odolnosti se uplatňuje:

- nespecifická rezistence – jsou to vrozené obranné faktory (fyzikální – mechanické bariéry, nepoškozená sliznice a kůže, biochemické – pH žaludku, aspekty alergické, hormonální nebo buněčné).
- Přirozená neboli nespecifická imunita – jedná se o vrozené životně důležité obranné funkce (fagocytóza, komplementový systém, lysozym, interferon a některé zánětlivé procesy).
- Získaná neboli specifická imunita – je podmíněna předchozím stykem s infekčním agens nebo jinými imunogeny (antigeny). Rozděluje se na humorální (protilátkovou) imunitu a buněčnou imunitu zprostředkovanou T lymfocyty.

MRSA – Methicilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je jednou z nejbekviternějších bakterií a patří mezi nejčastější původce nozokomiálních nákaz.

Staphylococcus aureus je původcem hnisavých onemocnění kůže, podkoží, mléčné žlázy, kostí, působí otitidu, sinusitidu, pneumonii, endokarditidu, meningitidu, syndrom toxického šoku a sepsi. Vyvolává infekce zejména v traumatizovaných a devitalizovaných tkáních a v místech, kde je umístěno cizí těleso (kanyla, katétr, šicí materiál, endoprotéza apod.)

Z místa primárního ložiska diseminují stafylokoky hematogenní cestou a mohou vytvářet metastatická ložiska. Vysoký je jejich podíl na NN.

Stafylokoky dlouhodobě přežívají v suchu a prachu, zaschlém hnisu (i několik týdnů). Většina kmenů produkuje biologicky aktivní toxiny a enzymy.

První kmeny methicilin - rezistentních stafylokoků (MRSA) byly zjištěny již v roce 1961, v širším měřítku se v nemocničním prostředí objevily koncem 70 a počátkem 80 let 20. století. Rezistence je způsobena produkcí alterovaného enzymu (transpeptidáza) s názvem penicilin binding protein 2a (PBP 2a), který má nízkou afinitu ke všem betalaktámovým antibiotikům. Se zvyšujícím se výskytem MRSA se zvyšuje i význam včasných preventivních opatření ve zdravotnických zařízeních. V ČR je současná situace charakterizovaná výskytem MRSA v klinických materiálech do 15 % (Holandsko, Švýcarsko, skandinávské země do 2 %).

MRSA způsobuje

- až trojnásobné prodloužení hospitalizace
- dlouhodobé podávání ATB
- 3x vyšší finanční náklady na léčbu bakteriémie způsobené MRSA oproti bakteriémii způsobené MSSA (methicilin senzitivní *Staphylococcus aureus*)
- častější zdravotní komplikace pacientů

Nosičství MRSA

- k šíření stafylokoků ve zdravotnických zařízeních významně přispívají asymptomatictí nosiči
- epidemiologicky nejzávažnější formou je nosní nosičství (v 30 % trvalé a v 70 % intermitentní)
- další formy nosičství jsou kožní, perineální, střevní a ve vlasové části hlavy
- nosní nosičství stafylokoků se vyskytuje téměř u všech dětí a přibližně u 40 % dospělých
- ve zdravotnických zařízeních je na některých odděleních kolonizovaných MRSA víc než 25 % pacientů
- nejvíce MRSA infekcí se vyskytuje u pacientů nad 75 let a u pacientů po chirurgickém zákroku

Většinu epidemií ve zdravotnických zařízeních způsobují kmeny stafylokoků označované jako „epidemické“ nebo nemocniční, které jsou často rezistentní na více druhů ATB. Když se nepodaří eradikace stafylokoků v rané fázi kolonizace prostředí rezistentními kmeny, prostředí se stane pro tyto patogeny endemické s vysokým počtem rezervoárů (kolonizovaných pacientů, kteří cirkulují mezi odděleními akutní péče, chronické péče a komunitním prostředím). Pacienti jsou kolonizováni velmi často prostřednictvím kontaminovaných rukou ošetřujícího personálu.

Rizikové faktory mající vliv na šíření v lůžkových zdravotnických zařízeních

- těžké základní onemocnění hospitalizovaných pacientů
- závažně imunokompromitovaní pacienti
- nedostatečné dodržování zásad hygienicko - epidemiologického režimu na odděleních
- nesprávné využívání izolace pacientů
- častá aplikace empirické ATB terapie
- vysoká frekvence indikací antimikrobiální profylaxe
- zvýšené používání ATB za určitý časový interval

Rizikové faktory ze strany pacienta

- mužské pohlaví
- věk nad 80 let
- hospitalizace v předcházejících 6 měsících
- periferní vaskulární onemocnění
- tlakové kožní ulcerace
- léčba steroidy
- onemocnění kůže
- ATB léčba v průběhu předcházejících 3 měsíců

Nejčastější rizikové faktory napomáhající vzniku MRSA infekce u pacientů

- hospitalizace na JIP
- užívání 3 a více ATB
- ulcerace kůže
- chirurgické rány a drény
- nazogastrální a ezofageální intubace
- intravenózní a močová katetrizace

Prevence šíření MRSA

Základní preventivní opatření jsou:

1. Hygiena rukou (viz metodický pokyn MZ ČR)

2. Skríníng na přítomnost MRSA formou stěru sliznice nebo kůže se musí zaměřit na:

- pacienti přijímané na JIP
- pacienti přijímané z jiného zdravotnického zařízení, kde se vyskytuje MRSA
- pacienti přicházející z oddělení s endemickým výskytem MRSA
- pacienti, přicházející po dlouhodobé hospitalizaci na jiném oddělení
- pacienti s anamnézou většího chirurgického zákroku v období předcházejících 5 let
- počítačová databáze na některých pracovištích se jmény pacientů, kteří byli v minulosti kolonizováni nebo infikováni MRSA
- skríníng zdravotnického personálu při nadměrném šíření MRSA (nosní sliznice, axila, perineum)

3. Izolace

- zabránění kontaktu pacienta s MRSA s jinými pacienty je nutné izolací na samostatném pokoji až do jeho dekolonizace (event. na pokoji s jiným pacientem kolonizovaným stejným mikroorganizmem)

Při příjmu, překladu a propouštění kolonizovaného pacienta je nutné tento údaj zřetelně zapsat do jeho zdravotnické dokumentace!!!

4. Dekolonizace

- nejčastěji aplikací antimikrobiálních přípravků lokálně na kůži či sliznici, systémová léčba kolonizace MRSA se zpravidla nevykonává

Nezbytné je dodržování zásad bariérové ošetrovatelské péče o MRSA pozitivní pacienty.

Rezistentní druhy bakterií, které se uplatňují jako původci nozokomiálních nákaz:

V posledních dvou dekadách narůstá významnost kolonizací a infekcí mikroorganismy s rezistencí k širokému spektru antibiotik (Multidrug-Resistant Organisms – MDRO). Z epidemiologického hlediska jsou multirezistentní organismy definovány jako bakterie, které jsou rezistentní k jedné nebo více skupinám antibiotik. Do této skupiny bakterií jsou zařazovány i kmeny, které jsou rezistentní k jedné skupině antibiotik, jako jsou MRSA – methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* nebo VRE-vankomycin – rezistentní enterokoky, nicméně většina kmenů z této skupiny vykazuje skutečnou rezistenci k většině dostupných antibiotik. Jedná se o kmeny *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, které se vyznačují rezistencí k celému spektru ATB nebo se zachovanou citlivostí jen k imipenemu (širokospektré beta-laktámové antibiotikum). U některých skupin nemocných se mohou vyskytovat též multirezistentní kmeny *Streptococcus pneumoniae* (MDRSP), rezistentní nejen k penicilinům, ale také k dalším širokospektrým ATB – makrolidům, chinolonům, u dialyzovaných nemocných pak kmeny stafylokoků s omezenou citlivostí nebo rezistencí k vankomycinu (VISA, VRSA).

Podle údajů Evropského centra pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) je v ČR například rezistence *Klebsiella pneumoniae* na cefalosporiny třetí generace jedna z nejhorších v Evropě (v roce 2011 to bylo 48,3 % izolovaných kmenů). Přitom jde o nejčastějšího původce nozokomiálních nákaz, například infekcí krevního řečiště, močových a dýchacích cest. K dalším rezistentním kmenům v ČR patří *E. coli* (23,5 % rezistence vůči fluorochinolonům a 11,4 % vůči cefalosporinům třetí generace). MSRA tvoří 14,5 % nákaz zlatým stafylokokem. Dalšími rezistentními kmeny jsou *Clostridium difficile* rezistentní na karbapenem, *Streptococcus pneumoniae* rezistentní na penicilin a *Staphylococcus aureus* rezistentní na vankomycin, *Serratia marcescens* rezistentní vůči cefalosporinům a dalším antibiotikům. CDC

nachází jako příčinu nesprávné používání a především nadužívání antibiotik, a to nejen v humánní, ale i veterinární medicíně.

- MRSA – methicilin – rezistentní *Staphylococcus aureus*
- MRCNS – methicilin – rezistentní koaguláza negativní stafylokoky
- VISA – *Staphylococcus aureus* se sníženou citlivostí k vankomycinu
- PRSP – *Streptococcus pneumoniae* rezistentní na PNC
- VRE – vankomycin – rezistentní enterokoky
- Enterokoky s vysokou rezistencí k aminoglykosidům

8 Speciální bakteriologie

K nejčastějším infekcím u dětí patří u nás infekce respiračního traktu. V posledních letech to také velmi úzce souvisí i u dospělých s kvalitou životního prostředí a klimatickými podmínkami. Celoroční teplotní výkyvy v mírném podnebí, mnohdy i o 20 °C ve velmi krátkém časovém rozmezí, snižují odolnost sliznice respiračního systému a zvyšují riziko vzniku infekce. Následkem je také pak větší vnímavost k adherenci patogenů na porušený slizniční povrch.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie. Praha: SZÚ, 2011, 20(5)

Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie. Praha: SZÚ, 2009, 18(6)

8.1 Původci bakteriálních infekcí respiračního systému

Podle statistických údajů asi tři čtvrtiny původců respiračních infekcí patří do skupiny virových patogenů. Zpravidla se jedná o primární virovou infekci a na virem takto poškozený slizniční povrch nasedne bakteriální superinfekce.

Infekce nosu a nosohltanu

Etiologickým agens těchto onemocnění – rhinitis a rinopharyngitis jsou z více než 50 % rhinoviry, kterým vyhovuje toto prostředí s teplotou 33-35 °C. Dalšími virovými patogeny jsou koronaviry a ostatní respirační viry, kromě virů chřipky. Pro onemocnění způsobená viry chřipky není rýma typická. Na virovou infekci velmi často nasedne bakteriální sekundární infekce a vzniká hlenohnisavý zánět s nazelenalou a nažloutlou sekrecí. Na akutní rhinitidě se podílejí bakterie jako *Haemophilus influenzae b*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* a také *Branhamella catarrhalis* nebo *Moraxella sp.* *Staphylococcus aureus* trvale osídluje nosní sliznici, nosohltan nebo tonzily u řady lidí v populaci bez klinických projevů. Tito lidé pak mohou představovat nebezpečí zejména pro imunitně oslabené jedince na odděleních v nemocnici, na jednotkách intenzivní péče nebo i v terénu. Větší hrozbu pro imunitně oslabené ale představují kmeny MRSA – methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*. Antibiotická terapie u původce infekce tohoto typu je velmi obtížná a zdlouhavá a s tímto problémem se potýkají pracoviště nejen u nás, ale i ve světě. K etiologickým agens chronických rým kromě zmíněných patogenů můžeme zařadit *Klebsiella ozenae* a *Klebsiella rhinoscleromatis*.

Virologické vyšetření provádět u běžných infekcí horních cest dýchacích je zbytečný luxus. Při podezření na bakteriální infekci provádíme výtěry z nosu, případně nosohltanu, kdy pátráme po nosičství *Neisseria meningitidis* a *Bordetella pertussis* nebo *Bordetella parapertussis*. Tyto patogeny jsou původci dávivého kašle a v posledních letech se tato infekce i přes povinné očkování stále častěji objevuje. Ukazuje se, že pravděpodobně schéma povinného očkování u tohoto patogenu není dostačující a protilátky vytvořené v dětství nechrání člověka po celý život.

Infekce orofaryngu a tonsil

Většina původců i v tomto případě jsou viry – rhinoviry, koronaviry a ještě také adenoviry. Musíme ale vždy myslet na bakteriální infekci – akutní tonsilitis vyvolanou beta-hemolytickým streptokokem skupiny A (*Streptococcus pyogenes*). Rozlišujeme dle klinického nálezu a vzhledu: tonsilitis acuta, catarrhalis, follicularis, lacunaris a pseudomembranosa. Klinické rozlišení virové a bakteriální tonsilitidy je velmi obtížné. Pro streptokokovou angínu je charakteristická stejnoměrně šarlatová a zduřelá sliznice tonzil a jejich okolí až celého orofaryngu, případně s petechiemi na patře.



Obrázek 13 Akutní streptokoková tonsilitis

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Nebývá přítomná rýma ani kašel. Bakteriologickou diagnostikou je nutné prokázat přítomnost beta – hemolytického streptokoka skupiny A (*Streptococcus pyogenes*) dále skupiny C, F a G) nebo *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Arcanobacterium haemolyticum* (patří do skupiny korynebakterií) nebo *Corynebacterium diphtheriae*, které se opět začíná objevovat stále častěji nejspíš jako importovaná infekce. Přítomnost výše uvedených patogenů může zhoršovat celkový klinický průběh původního virového onemocnění. V mikrobiologické laboratoři pak kultivujeme výtěry z krku, z nosu, nosohltanu a tonsil. Kultivace probíhá klasickým způsobem na kultivačních půdách v Petriho miskách, jako je krevní agar – základní půda a další selektivně – diagnostické půdy, např. Levinthalův agar pro kultivaci *Haemophilus influenzae b*, Bordet-Gengou pro kultivaci bordetel. Kultivace probíhá ve zvýšené tenzi CO₂ v termostatech, nejvhodnější je prodloužená inkubace 48 hodin, doprostřed inokula po celé šíři krevního agaru se očkuje stafylokoková čára pro lepší záchyt hemofilů (tzv. satelitizmus – růst hemofilů kolem stafylokokové čáry). V případě, že se beta-hemolytické streptokoky (mimo *Streptococcus pyogenes*) nacházejí ojedinele a

nenacházíme u pacienta klinické příznaky, doporučujeme opakovat odběr, zpravidla antibiotickou terapii nenasazujeme.

U bakteriálních infekcí HCD je vždy nález masivní.

V ambulancích jsou v posledních letech oblíbené rychlé a vysoce specifické diagnostické testy – pro detekci *Streptococcus pyogenes* latexaglutinační metodou do dvou minut. Pozitivní nález svědčí pro přítomnost velkého množství *Streptococcus pyogenes*. Lékem volby je stále penicilin. Citlivost patogena k tomuto antibiotiku je pořád velmi dobrá. V případě alergie k penicilinům jsou lékem volby makrolidová antibiotika (erytromycin, roxitromycin). Je třeba diferenciatně diagnosticky vyloučit infekci způsobenou anaerobními bakteriemi a zvážit léčbu linkosamidy anebo peniciliny potencované inhibitorem beta- laktamázy.

Infekce středního ucha a vedlejších dutin nosních

Otitis media (akutní zánět středního ucha) a sinusitis maxillaris acuta, event. frontalis acuta (akutní zánět paranazálních dutin) obvykle zahajují respirační viry, ojediněle *Mycoplasma pneumoniae*. Bakteriální hnisavá infekce je opět sekundární a nasedá na slizniční povrch narušený virovou infekcí. Na etiologii se podílejí hlavně *Streptococcus pneumoniae* (grampozitivní kok) a *Haemophilus influenzae b* (gramnegativní tyčka), dále je to *Branhamella catarrhalis* (gramnegativní kokobacil) a *Moraxella species* (gramnegativní mohutná tyčka), *Staphylococcus aureus* (grampozitivní kok) a *Streptococcus pyogenes* (grampozitivní kok). Často jsou etiologickým agens i anaeroby jako např. *Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Prevotella spp.* a *Porphyromonas spp.* Komplikací otitis media bývá mastoiditis – zánět výběžku bradavičnatého nebo meningitis purulenta – hnisavý zánět mozkových plen, případně trombose esovitého splavu.

Chronický zánět středního ucha způsobuje *Pseudomonas aeruginosa* (gramnegativní nefermentující tyčka) nebo *Proteus mirabilis* (gramnegativní nefermentující tyčka).

Chronické sinusitidy způsobují většinou stafylokoky a anaerobní grampozitivní peptostreptokoky. Pro diagnostiku bakteriálního původce se odebírá sekret ze středouší získaný po paracentéze (propíchnutí bubínku) nebo po spontánní perforaci, u externích a chronických otitid výtěry ze zevního zvukovodu. U sinusitid vyšetřujeme centrifugovaný výplach z dutiny provedený sterilním fyziologickým roztokem, ne peroxidem, persterilem nebo borovou vodou. Sice jsou to slabé antiseptické přípravky, ale velmi těžce se z nich tyto patogeny kultivují.

U chronické sinusitidy doporučujeme i kultivaci anaerobních bakterií.

Terapie se řídí aktuálním antibiogramem, zpravidla používáme aminopeniciliny, lépe s inhibitorem beta-laktamázy, cefalosporiny, kotrimoxazol, linkosamidy a makrolidy.



Obrázek 14 Akutní otitis media

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Infekce příklopky hrtanové (epiglottitis)

Epiglottitis vyvolává obávaný *Haemophilus influenzae b*. Otok epiglottis, který vzniká, může vážně ohrozit postižené dítě na životě. V tomto případě neprovádět!!!! výtěr z hrtanu, protože pokus o odběr materiálu by mohl vyvolat laryngospasmus a na výsledek bakteriologického vyšetření se i tak vzhledem k závažnosti onemocnění nečeká. Vhodné je odebrat krev na vyšetření hemokultury. Je nutné u dítěte zajistit průchodnost dýchacích cest a nasadit neprodleně kortikoidy a antibiotikum účinné proti hemofilům (amoxicilin – potencovaný kyselinou klavulanovou), cefuroxim, cefotaxim, ceftriaxon, u alergií na beta-laktamová antibiotika je lékem volby chloramfenikol.

Vzhledem k tomu, že od roku 2007 je součástí hexavakcíny také vakcína proti *Haemophilus influenzae b*, se onemocnění vyskytuje zcela ojediněle a děti jsou dostatečně chráněné. Musíme však na toto onemocnění v rámci diferenciální diagnostiky vždy myslet.



Obrázek 15 Akutní epiglottitis

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Infekce laryngu a trachey

Nejdůležitějšími původci těchto onemocnění jsou viry parainfluenzy, viry influenzy a RS-virus. Klinicky jsou současně se zánětem hrtanu postiženy i hlasivky, což se projevuje chrapotem až ztrátou hlasu.

Bakteriální primární infekci vyvolávají v této oblasti respiračního traktu zejména *Chlamydia pneumoniae* a *Corynebacterium diphtheriae* původce záškrtu – může vyvolat pseudomembranózní laryngotracheitids (tzv. croup). Z ostatních bakterií jsou to stafylokoky a hemofily.

Vzhledem k závažnosti zánětů laryngu a trachey bývá virologické vyšetření na místě.

Bakteriologické vyšetření je nutné hlavně při podezření na záškrť. Provádíme stěry z pablán a ty se pak na příslušných selektivně – diagnostických půdách (Tynsdalova půda nebo Claubergova půda) kultivují dále při teplotě 37 °C. Podezřelé kolonie pak hodnotíme mikroskopicky (grampozitivní kyjovité tyčky), biochemicky a průkazem toxicity příslušného kmene.

V klinickém obrazu u tracheitid je výrazná bolest za sternem, horečka a kašel. Diferenciálně diagnosticky je nutné odlišit pneumonii.

Terapie se řídí především podáním antibiotik, ale to nestačí, protože tyto kmény produkují difterický toxin. Současně je nutná pasivní imunizace sérem proti tomuto toxinu.

V klinickém obrazu u tracheitid je výrazná bolest za sternem, horečka a kašel. Diferenciálně diagnosticky je nutné odlišit pneumonii. Léčba je symptomatická, antibiotika podáváme jen při hnisavé expektoraci.



Obrázek 16 Akutní laryngitis

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Infekce bronchů

Bronchitidy, zvláště u dětí, způsobují z valné části viry. Průdušky jsou postiženy především adenoviry, viry influenzy a parainfluenzy a RS-virem. K akutním exacerbacím chronické bronchitidy dochází velmi často. Původci bakteriálních infekcí v bronších jsou pneumokoky, hemofily, zlaté stafylokoky a jako primární agens to jsou *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* a *Bordetella pertussis*. U nemocných cystickou fibrózou dolní dýchací cesty zpravidla osídluje *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Burkholderia cepacia*. Zmíněné kmeny jsou velmi agresivní a většinou dlouhodobě osídluje dolní cesty dýchací u nemocných cystickou fibrózou. Navíc bývají rezistentní vůči antibiotikům a představují velký problém zejména u adeptů na transplantaci plic. Pro přímou detekci bakteriálních agens odebíráme sputum, které pak přímo kultivujeme. Pro průkaz mykoplazmat a chlamydií je optimální sérologická diagnostika vzhledem k náročnosti jejich kultivace v laboratorních podmínkách. Detekce původce syndromu dávného kašle je zaměřena na průkaz *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*. Kultivační průkaz provádíme pomocí speciálních kultivačních médií – půd, je to Bordet–Gengouova půda. Sérologicky lze prokazovat protilátky třídy IgG proti antigenu a protilátky třídy IgA, IgM a IgG proti toxinu.

Terapie akutních hnisavých bronchitid je zahájena ampicilinem nebo amoxicilinem, popříp. potencovaným inhibitorem beta-laktamáz, dále cotrimoxazolem nebo cefalosporiny II. generace. Erytromycin, lépe roxithromycin je vhodný k léčbě pertusse.

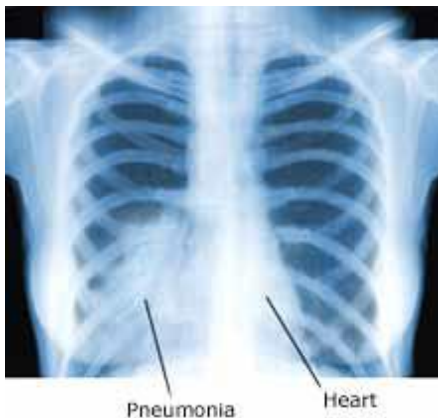
Mycoplasmové a chlamydiové bronchitidy léčíme makrolidovými antibiotiky druhé generace – azithromycin, clarithromycin nebo doxycyklin.

Infekce bronchiolů jsou typické pro kojenecký věk a vyvolávajícím agens bývá RS-virus, virus parainfluenzy. Bakteriální původci nebyli detekováni v této části dýchacích cest. V klinickém obrazu velmi snadno vznikne dušnost, tachypnoe, tachykardie, horečka a alterace stavu. Důležitý je rychlý průkaz (příp. kultivace) RS viru a klinická diagnostika. Terapie preferuje symptomaticky podávaná léčiva (inhalační Ribavirin) a často je nutná hospitalizace. Preventivně pro rizikové skupiny - nedonošené děti podáváme monoklonální protilátky na doporučení perinatologického centra.

Infekce plic - pneumonie

Etiologie těchto onemocnění je velmi rozmanitá. Jinak je tomu u zdravých lidí, u osob s imunodeficitem, při kontaktu se zvířaty. Odlišná situace je také u akutních pneumonií, subakutních, chronických, nozokomiálních, u dětí i u dospělých.

Velmi odlišná situace je také u bronchopnemonií a plicních zánětů intersticiálních. Původcem akutní pneumonie dospělých získané v terénu je nejčastěji *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae b*. U starších lidí se většinou jedná o sekundární bakteriální infekce, které nasedají na sliznice dolních cest dýchacích po předchozím zánětu virovém (především se jedná o poškození respiračního epitelu virem chřipky v bronších). Klinický obraz je charakteristický produktivním kašlem, horečkou, je poslechový nálezný a vysoká hladina CRP. Na prvním místě u dětí je původcem *Haemophilus influenzae b*, dále pneumokoky, gramnegativní enterobakterie *Klebsiella pneumoniae* a *Branhamella catarrhalis*. U novorozenců má největší podíl na těchto infekcích *Streptococcus agalactiae* (beta-hemolytický Streptococcus skupiny B) a *Chlamydia pneumoniae*. Z virových infekcí nalézáme především viry chřipky A a B, u dětí respirační viry, hlavně RS-virus. Oslabení jedinci mají výraznější klinický průběh a etiologicky se nejvíce na vzniku pneumonie podílejí enterobakterie – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* a *Legionella pneumophila*. U případů těžšího postižení imunity (např. AIDS) se na vzniku zánětu podílejí *Pneumocystis carinii*, *Cytomegalovirus*, atypická mykobakteria, *Nocardia asteroides*, *Aspergillus spp.* a *Candida spp.*



Obrázek 17 Pneumonie

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

K přenosu infekce ze zvířat - zoonózám dochází při kontaktu se zvířaty. Mezi nejčastější původce zoonóz patří *Chlamydia psittaci* – původce ornitózy, původce Q-horečky *Coxiella burnetii*, dále *Pasteurella multocida* a *Francisella tularensis* – původce tularémie přenesené od zajíců nebo lišek na člověka.

K hemorrahickým pneumoniím patří např. sněť slezinná – původcem je *Bacillus anthracis* nebo mor – původcem je *Yersinia pestis*.

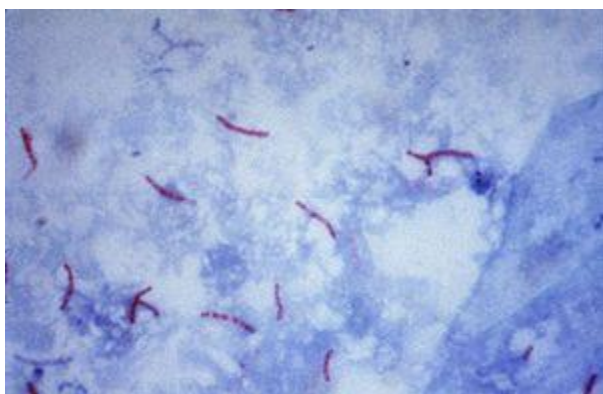
Terapie antibiotiky se řídí antibiogramem – preferujeme aminopeniciliny, cefalosporiny stabilní vůči beta-laktamázám. U atypických pneumonií (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella sp.*) jsou to makrolidová antibiotika a tetracykliny.

Nozokomiální a ventilátorové záněty plic u hospitalizovaných pacientů jsou nejčastěji způsobovány enterobakteriemi – *Klebsiella pneumoniae*, dále nefermentující tyčky *Pseudomonas aeruginosa* a jiné, *Acinetobacter spp.*, dále je původcem *Staphylococcus aureus*, anaerobní bakterie a *Legionella pneumophila*. Většinou jsou to kmeny rezistentní na antibiotika. Diagnostika je vhodná metodami invazivními, např. transtracheální punkce,

bronchoalveolární laváž, chráněný seškrab cytobrushem, hemokultivace. Terapie je vždy cílená podle aktuálního antibiogramu.

Tuberkulóza probíhá zpravidla pod obrazem subakutní nebo chronické pneumonie. Původcem bývá *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium – intracellulare*. K častějším onemocněním ale patří aspirační pneumonie následně se vznikem plicních abscesů. Na etiologii se podílí anaerobní flóra – *Peptococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Prevotella melaninogenica*, *Bacteroides fragilis*.

Při podezření na pneumonii se vždy vyšetřuje sputum. Pro optimální diagnostický závěr ale nebývá toto vyšetření velmi přínosné. Mnohem vhodnější je bronchoalveolární laváž a hemokultura. Můžeme také, ve speciálních případech, provést sérologické vyšetření pro průkaz původců respiračních nákaz. Diagnostika ze sputa je velmi problematická, protože sputum obsahuje vše, co se nachází v ústní dutině – sliny, bakterie ústní flóry, i když je to obsah dolních cest dýchacích. Získání sputa u malých dětí je obtížné – nemožné. Hlen se na sliznicích respiračního traktu tvoří vždy u infekcí způsobených respiračními viry. Sputum po doručení do mikrobiologické laboratoře se má správně zhodnotit vizuálně – čiré, hlenohnisavé, s příměsí krve a pak by se mělo homogenizovat, tzn. protřepat s broncholyzinem a vyočkovat. Dále zhotovujeme mikroskopický preparát, který se barví v případě podezření na TBC metodou Ziehl-Neelsen.

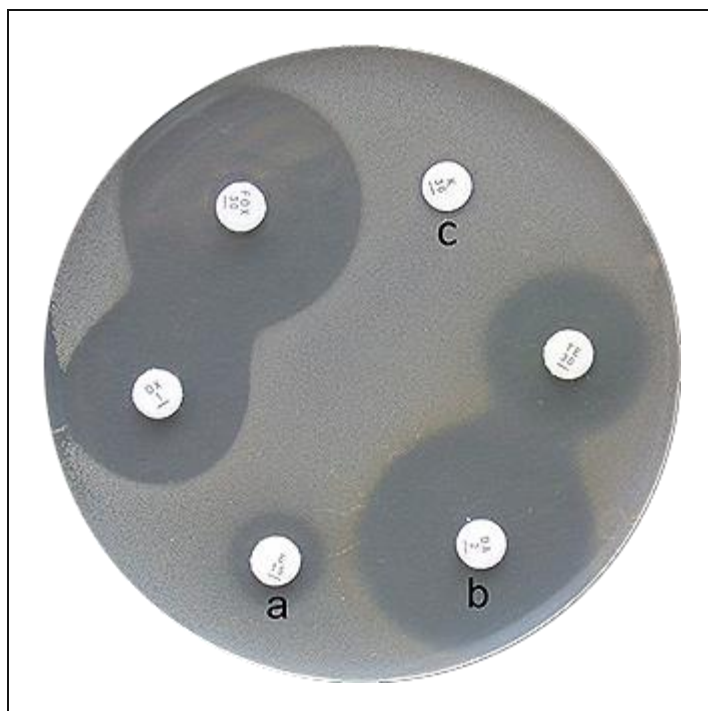


Obrázek 18 *Mycobacterium tuberculosis*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

V mikroskopickém preparátu se hodnotí vzájemný poměr plochých epitelíí a leukocytů. V případě, že je nalezeno mnoho epitelíí a málo leukocytů, svědčí to pro výraznou orofaryngeální kontaminaci a vzorek označujeme jako sliny a nekultivujeme. Při tzv. semikvantitativní kultivaci sputa se za signifikantní považuje nález patogenního mikroba v množství $> 10^5$ v 1 ml. Někteří specialisté považují za racionálnější diagnostikovat ve sputu hnisavé shluky, ve kterých pak detekujeme přítomné mikroby. Kultivační půdy, které se používají k vyšetření vzorků z dolních cest dýchacích, se inkubují v atmosféře s 5 % CO₂, což zlepšuje mimo jiné i záchyt pneumokoků a umožní růst hemofilů. U hospitalizovaných jsou vhodnější selektivně – diagnostické půdy pro gramnegativní tyčinky a stafylokoky.

Terapie musí být dostatečně dlouhá a cílená dle citlivosti původců infekce na konkrétní antibiotika (dle antibiogramu). U atypických pneumonií je potřeba léčbu indikovat na 14-21 dnů, jinak hrozí riziko recidivy.



Obrázek 19 Antibiogram

Zdroj: <http://www.szu.cz/stafylokoky-indukovana-rezistence-ke-klindamycinu>

Legenda k antibiogramu

a = testovaná bakterie je mírně citlivá na ATB na terčičku

b = testovaná bakterie je citlivá na ATB na terčičku, neroste v přítomnosti ATB

c = testovaná bakterie je rezistentní k ATB na terčičku, roste i v přítomnosti ATB

Přehled vyšetřovacích metod:

1. Výtěr z krku – *Streptococcus pyogenes*

- cílené vyšetření při podezření na *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoea*

2. Výtěr z nosu, nosohltanu – cílený

- *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*

3. Výtěr z hltanu a nosu na virologické vyšetření

4. Punktát z paranasálních dutin

- bakteriologická mikroskopie a kultivace, cílená anaerobní kultivace a mykologická kultivace

5. Punktát z oblasti středouší

- bakteriologická kultivace a mikroskopie

6. Sputum získané expektorací

- mikroskopický průkaz a posouzení validity vzorku

- bakteriologická a mykologická kultivace, TBC kultivace

7. Bronchiální sekret, BAL – laváž

- mikroskopický a kulturační průkaz bakteriologický

- speciální kultivace (*Legionella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*)

- průkaz antigenů a kultivace virů (respirační viry)

8. Vyšetření hemokultury

9. Vyšetření protilátek v krvi (sérologické vyšetření)

- *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*
 - *Chlamydia pneumoniae*
 - *Mycoplasma pneumoniae*
10. Vyšetření antigenu v moči (*Legionella*, *Pneumokoky*)

8.2 Původci bakteriálních infekcí gastrointestinálního traktu

Z hlediska anamnézy a pro epidemiologický význam je důležité rozlišit infekční průjmy a otravy z potravin. Anamnéza musí být zaměřena na celkový stav, trvání příznaků, užívání léků a konzumované jídlo. Rozlišujeme z epidemiologického hlediska **průjmy infekční**, kdy původcem je mikroorganismus a infekce se šíří na další jedince z okolí a **otravy z potravin**, kdy toto nebezpečí nehrozí.

Infekční průjmy

K nejčastějším a nejdůležitějším původcům patří bakterie **salmonely**.

Klinicky se onemocnění projevuje jako gastroenteritida. Na vzniku infekce tohoto typu se podílejí různé druhy salmonel ze špatně tepelně zpracovaných potravin. Infekční dávka, která je nutná k vyvolání onemocnění, musí být obvykle velmi vysoká. Je to zpravidla až 10^5 - 10^8 bakterií a inkubační doba bývá někdy zase neobvykle krátká (stačí i pouhých 6 hodin na propuknutí infekce, u většiny onemocnění je to doba kolem 48 hodin). Salmonelózy nepovažujeme za otravy z potravin, ale za infekční průjmy. Salmonely pronikají epitelem v ileocekální oblasti a vyvolávají zánět v lamina propria. Díky zánětu se zvyšuje hladina prostaglandinů a dochází k aktivaci cyklického adenosinmonofosfátu. Zvýšená sekrece tekutin do lumen střeva je důsledkem popsané aktivace. Výjimečně dochází k pomnožení a roznesení salmonel do krevního řečiště (cílová tkáň - kostní dřeň), kdy může dojít k sepsi (např. u břišního tyfu). Salmonelózy vznikají vesměs přenosem salmonel ze zvířete na člověka, protože salmonely jsou součástí běžné mikrobiální flóry drůbeže (nacházejí se ve vejcích nebo v drůbežím masu). Toto onemocnění se mezi lidmi obvykle dále nešíří, i když v rodinách a v kolektivech je třeba dbát zvýšené opatrnosti a přísného dodržování hygienických zásad. Salmonel je přes 2000 sérotypů. U nás jsou nejčastěji izolovanými sérotypy *Salmonella enteritidis* a *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* sérovar *Enteritidis*, povoleno psát jako *Salmonella Enteritidis* (původně *Salmonella Typhimurium*). Salmonelly jsou seřazeny v tzv. Kauffmann - Whiteově schématu, kde se vyhledávají při identifikacích. Dalšími bakteriálními původci infekčních průjmů jsou kampylobaktery, shigely a yersinie. V našich podmínkách je to hlavně *Shigella sonnei*, méně *Shigella flexneri* a velmi vzácně pak *Shigella boydii*. Onemocnění bacilární dysenterie v posledních letech ubývá. Klasické epidemie z vody jsou vzácností. Do popředí se v posledních letech dostává spíše onemocnění kampylobakteriózou – původce *Campylobacter jejuni*, který je také součástí běžné mikrobiální flóry drůbeže (kuřat, slepic). Zdrojem tohoto onemocnění je nedostatečně tepelně zpracované drůbeží maso. Bakteriální kmeny *Escherichia coli*, které jsou ve střevě patogenní, rozdělujeme do 6 skupin:

1. EPEC - enteropatogenní *E. coli* – způsobují průjmy novorozenců a dětí do dvou let
2. ETEC - enterotoxigenní *E. coli* – původci cestovatelských průjmů a průjmů v zemích s nižším hygienickým standardem cholerového typu (křeče, zvracení).
3. EIEC - enteroinvazivní *E. coli* vyvolávají průjmy shigelového typu spíše u dospělých.
4. DAEC - difúzně adherentní *E. coli* - opět jsou to původci vodnatých cestovatelských průjmů se zvracením.

5. EAggEC - enteroagregativní *E. coli* – původce cestovatelských vodnatých průjmů bez zvracení, vyskytují se nejčastěji u dětí žijících v zemích Asie s nižším hygienickým standardem. Rezervoárem je člověk a k přenosu dochází fekálně – orální cestou.

6. STEC - shigatoxigenní *E. coli*, používá se i zkratka VTEC-verotoxigenní *E. coli*, dříve shiga-like toxigenní *E. coli*. Tyto kmeny *E. coli* jsou producenty Shiga toxinu 1 nebo 2, který je velmi podobný Shiga toxinu kmenu *Shigella dysenteriae* 1 - původce bacilární úplavice. Existuje asi 250 sérotypů, které jeden nebo oba Shiga toxiny produkují. V poslední době se uvádí, že až 40 % sérotypů může u člověka způsobit vážné onemocnění, např. hemoragickou kolitidu (krvácivý průjem) a hemolyticko-uremický syndrom (anemie, trombocytopenie a postižení ledvin). Tuto situaci už pak hodnotíme jako systémové, život ohrožující onemocnění. Tyto bakteriální kmeny jsou označovány jako EHEC - enterohemoragické *E. coli* a jsou podskupinou STEC. K jejich faktorům virulence patří: Shiga toxin, adhezní faktor intimin a EHEC-hemolyzin. Velmi důležitou vlastností EHEC je také nízká infekční dávka. Minimální infekční dávka je 10-100 bakterií. Přenos je nejčastěji alimentární cestou – nedostatečně tepelně opracovaným masem, mlékem, zeleninou i kontaminovanou pitnou vodou. V osmdesátých letech minulého století byly zaznamenány prvé sporadické případy a epidemie v USA i Kanadě. Často byly cestou přenosu nákazy hamburgery, proto se užívá název tzv. „hamburgerová nemoc“. První epidemii vyvolal sérotyp *E. coli* O157:H7, ale i další sérotypy O 26 O 103 O111. Poslední z enterohemoragických kolitid byla v roce 2011, propukla v Německu a patogen pocházel z okurek.

Dalšími mikroorganismy podílejícími se na vzniku průjmů jsou: *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium difficile*, dále *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, u novorozenců *Pseudomonas aeruginosa*. Průjmy mohou způsobovat také *Aeromonas spp.*, *Plesiomonas shigelloides*, *Edwardsiella tarda*. Též někteří příslušníci bakteriální střevní mikroflóry jsou považováni za pravděpodobné původce průjmů (oslabená imunita organismu, vysoká infekční dávka), např.: *Bacteroides fragilis*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Providencia alcalifaciens*.

Průjem může vyvolat i směs pivních kvasnic typu *Saccharomyces cerevisiae*.

Téměř polovina průjmů je způsobená viry, zvláště v zimních měsících. K těm nejčastějším patří rotaviry, méně častými jsou adenoviry a kaliciviry, střevní koronaviry a astroviry a řadí se k nim i infekční agens Norwalk. O Norwalk viru se v posledních letech hodně diskutuje v souvislosti s používáním mobilních telefonů a PC, kdy pravděpodobně dochází ke kontaktnímu přenosu.

Velmi malé procento průjmů způsobují parazité. Nejčastěji to bývá *Giardia lamblia*, hlavně v jižních oblastech Balkánu, dále *Entamoeba histolytica*. U imunodeficientních pacientů to může být *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli*.

Z hlediska klinického nálezu je vhodné rozlišovat průjem vyvolaný mikrobiálním napadením povrchu střevní sliznice, průjem vyvolaný enterotoxinem a průjem při postižení celé střevní stěny.

1. Průjem s postižením povrchu sliznice.

Typickou infekci vyvolávají příslušníci rodu *Salmonella*, *Shigella* a *Campylobacter*. Inkubační doba těchto infekčních průjmů je delší, zpravidla 1-3 dny. Zánětlivá reakce vede k přítomnosti leukocytů a erytrocytů ve stolici a ke zvýšené teplotě. U pseudomembranózní kolitidy vyvolané *Clostridium difficile* je střevní sliznice postižená vlivem toxinu, nikoli invazí mikroba. Onemocnění se rozvíjí zejména u hospitalizovaných pacientů po antibiotické terapii, hlavně linkosamidy, ale i jinými antibiotiky. Díky rezistentním sporám se *Clostridium difficile* v nemocničním prostředí snadno šíří.

2. Enterotoxické průjmy jsou typické krátkou inkubační dobou (6 až 12 hodin). V klinickém nálezu jsou vodnaté stolice ve velkém počtu, které snadno vedou k dehydrataci, častá je nauzea a zvracení, není přítomna zvýšená teplota, ve stolici nenalzáme erythrocyty ani leukocyty. Radíme sem cestovatelské průjmy vyvolané enterotoxigenními kmeny *Escherichia coli*, cholery (*Vibrio cholerae*), enterotoxikózy způsobené toxiny *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Plesiomonas shigelloides*, dále gastroenteritidy vyvolané adenoviry nebo virem Norwalk a neinvazivní parazitózy - *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*.

3. Invazivní mikroorganismy *Salmonella typhi* nebo *Yersinia enterocolitica* na začátku infekce vyvolávají spíše zácpu než průjem. Po průniku přes střevní sliznici se šíří lymfatickou cestou do mezenterálních uzlin, jejichž zánět u yersiniózy může imitovat apendicitidu. *Salmonella typhi* z lymfatických uzlin proniká do krve a způsobuje těžkou generalizovanou infekci, v jejíchž pozdních stádiích se žluč dostává do střeva znovu a vyvolá zvrhovatění Peyerských plátů.

Otravy z potravin

K typickým původcům otrav z potravin patří ty mikroorganismy, které během svého množení v potravinách vylučují přímo do nich enterotoxiny.

Nejčastěji v našich podmínkách takovéto onemocnění způsobuje *Staphylococcus aureus* (stafylokoková enterotoxikóza vyvolaná kmeny produkujícími např. v majonézách enterotoxiny A a D).

Bacillus cereus se množí především v pokrmech z rýže a vylučuje do nich toxiny vyvolávající zvracení a průjem.

Clostridium botulinum - původce otravy klobásovým jedem neboli botulismu, vyvolaného u lidí botulotoxinem typu A, B a E. K otravě dochází většinou po konzumaci konzerv – zelené fazolky, čalamáda, jedná se především o zeleninu, která je téměř vždy kontaminovaná sporama klostridií. Při vysokém pH (alkalické prostředí) se toxin nikdy nevytvoří, ale v kyselém prostředí – nálevy lehce nakyslé a kyselé (pH 4,8-7,0) toxin stabilizují. *Clostridium perfringens* produkuje enterotoxin, který může pravděpodobně také vyvolávat průjmy.

Průjmy se zvracením se mohou objevit také po konzumaci mořských ryb, krevet a jiných mořských produktů.

Bakteriologické vyšetření stolice

Správný odběr a včasná diagnostika je velmi důležitá pro další ovlivnění průběhu onemocnění.

Standardním diagnostickým postupem je bakteriologické vyšetření stolice. Absolutně je indikováno v těchto případech:

1. Při akutním průjmovém onemocnění (APO)
 - s hromadným výskytem
 - u osob činných v epidemiologicky závažných činnostech
 - u rodinných příslušníků osob činných v epidemiologicky závažných činnostech u onemocnění se závažným klinickým průběhem
 - u osob oslabených (kojenci, starší osoby, imunosuprimovaní apod.)
 - u osob se závažnou epidemiologickou anamnézou (např. pobyt v lokalitách se známým zvýšeným výskytem APO, pobyt v zahraničí apod.)
 - u osob hospitalizovaných
2. při vyšetřování osob v kontaktu s APO v rámci represivních protiepidemických opatření

3. u osob s horečnatým onemocněním nejasné etiologie

Relativními indikacemi bakteriologického vyšetření stolice jsou:

- a) průjemová onemocnění v jiných situacích
- b) dlouhodobá nejasná onemocnění gastrointestinálního traktu
- c) akutní břišní příhody
- d) sledování pacientů s neutropenií

Odběry

Stolice se odebírá jako výtěr z konečnicku a zasílá se v odběrové soupravě s transportním médiem – půda Amiesova. Výtěr na tamponu preparovaném dezoxycholátovou půdou (tzv. DC-tampon) je přípustný pouze při hromadných vyšetřeních při podezření na salmonelózu a shigelózu.

Zaslání vzorku stolice ve zkumavce není chybou, navíc se tento vzorek může použít i pro virologické nebo parazitologické vyšetření stolice.

Diagnostika

Vzorek stolice se kultivuje na 2-3 selektivně diagnostických půdách pevných (pro salmonely, shigely a yersinie) – odečet za 24 až 48 hodin a na jedné selektivně pomnožovací půdě tekuté, z níž se po 24 hodinách vyočkovává na 1-2 selektivně diagnostické půdy pevné. Pokud je stolice dodaná v transportní půdě, kultivuje se ještě mikroaerofilně při 42 °C na půdě Karmali – selektivně diagnostická půda pro kampylobaktery.

Jedna z půd určených k primoizolaci musí zaručovat optimální růst a záchyt nejen salmonel, ale i shigel, je to DC agar, MAL půda nebo XLD. Druhou bývá půda MacConkeyho nebo Endova. Slouží k záchytu enteropatogenních a dalších kmenů *E. coli* a *Y. enterocolitica*. Půda Wilson Blair slouží k záchytu *Salmonella typhi* a laktózapozitivních sérotypů salmonel. Jako selektivně pomnožovací půda se k vyšetření v humánní mikrobiologii používá půda selenitová.

Ve zvláštních případech u **děti do 1 roku**, při podezření na otravy z potravin, u průjmů s krví nebo při podezření na *E. coli* O157:H7, při vodnatých průjmech a při podezření na cholera, při podezření na TBC apod. se stolice kultivuje ještě na dalších vhodných půdách podle situace, např. na krevním agaru, na selektivní půdě pro stafylokoky atd.

Při podezření na infekci *Clostridium difficile* lze ve stolici prokazovat i jeho toxin.

Na základě biochemických vlastností následuje další identifikační krok a posléze se kmen podrobuje serotypizaci. Citlivost k antibiotikům se stanovuje výjimečně na požádání ošetřujícího lékaře.

Konečnou instancí jsou národní referenční laboratoře pro příslušné mikroorganismy ve Státním zdravotním ústavu v Praze.

Vyšetření při otravách z potravin

Tato vyšetření se provádějí nejen ze stolice, ale i ze zbytků potravin, podezřelých pokrmů, příp. zvratků, stěrů z náčiní apod. Pokud je to možné, prokazuje se ve vzorcích z potravin i toxin (u botulizmu a stafylokokové enterotoxikózy). Nález *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* nebo *Bacillus cereus* ve stolici sám o sobě nic neznamena. U stafylokoků je třeba mj. posoudit fagotyp a enterotoxicitu izolátů ze stolice a z podezřelé potraviny. U klostridií a bacilů, které se rovněž nalézají ve střevě zdravých osob, je třeba vzorky stolice i potraviny vyšetřovat semikvantitativně.

Terapie infekčních průjmů

Terapie akutních průjmů závisí na stavu dehydratace. Dehydratace je život ohrožující u profusních cholericformních průjmů, u kojenců a starších osob.

Rehydrataci provádíme tekutinami obsahujícími vhodnou směs elektrolytů a glukózy, u lehčích stavů bez zvracení perorálně, jinak v i. v. infuzích.

Antibiotika mají efekt u onemocnění vyvolaných invazivními bakteriemi. Při běžném akutním průjmovém onemocnění je jejich podání spíše chybou, protože po léčbě se často pozoruje prodloužené vylučování agens z organismu. Přípustná jsou tzv. střevní dezinficiencia – např. klasické chinoliny např. Endiaron, který působí i na giardie a entamoebly.

Podání léků snižujících motilitu střeva jen prodlužuje kontakt střevní sliznice s patogenem. Podávání u infekčních průjmů je opět chybou. Vhodný je Ercefuryl nebo aktivní uhlí, které má detoxikační účinek v dávce alespoň 10 tablet najednou.

8.3 Původci bakteriálních infekcí uropoetického systému

Uropoetický systém můžeme rozdělit na dvě důležité části - horní, který zahrnuje kromě renálního parenchymu i ledvinné pánvičky a močovody a dolní, který zahrnuje močový měchýř a močovou trubici.

Z hlediska anatomie se na vzniku a udržování močových infekcí mohou podílet zejména vrozené anomálie nebo různě získané formy obstrukce močových cest (močové kameny, vesikouretrální reflux, striktury uretry atd.). Diagnostické nebo terapeutické výkony jsou v této oblasti vysokým rizikem pro vznik a šíření močových infekcí. Patří k nim katetrizace nebo i cystoskopické vyšetření. Nemalý podíl na vzniku a šíření infekce má také porušení přirozených ochranných bariér uropoetického systému, zvýšení kyselého pH moči nad 7 (fyziologické rozmezí pH moči je mezi 4,5-7,0) a narušení intaktní sliznice.

Klinický nálezn a diagnostika infekcí uropoetického systému

U tohoto typu infekcí je jedním z nejčastějších příznaků časté nucení na močení (polakisurie). Dále má postižený pocit pálení v uretře doprovázené přítomností hlenu, hnisu nebo krve v moči. Důležité je porovnávat vzhled moče s mikroskopickým a kultivačním nálezem.

Moč vyšetřujeme metodami, které umožňují kvantitativní i kvalitativní stanovení patogenních mikroorganismů v 1 ml moči.

Odběr biologického materiálu – moči se provádí vždy při podezření na uretritidu a je důležité odebrat první porci moči, aby nedošlo k odplavení epitelů a tím i původců infekce. Vzorky musí být odebrány lege artis, jinak výsledek není objektivní a snadno dojde ke kontaminaci vzorku mikroflórou kůže nebo sliznice.

U infekcí ledvin a ureterů se doporučuje odebrat střední proud moči, při infekci prostaty vyšetřujeme vzorek poslední porce moči.

Suprapubická punkce močového měchýře představuje vlastně jediný způsob odběru moči bez kontaminace. Pro většinu pacientů, zejména ambulantních, to ale nepřichází v úvahu. Hospitalizovaným pacientům odebíráme moč cévkovanou, suprapubickou punkcí provádíme pouze v ojedinělých případech po důkladném uvážení. U většiny pacientů provádíme odběr moči vymočením pacienta do odběrové nádoby, proto je nutné činit taková opatření, která povedou k minimalizaci rizika kontaminace. V případě, že se odebraný vzorek moči nedostane do laboratoře do 2 hodin, je potřeba ho uchovávat při chladničkové teplotě 4 °C. Tím se zabrání pomnožení přítomných bakterií a kvasinkovitých mikroorganismů.

Mikroskopické vyšetření moči na bakteriurii (tj. přítomnost bakterií v moči prokazatelnou mikroskopicky) se nejčastěji vyšetřuje pomocí speciálního barvení podle Grama. Infekce spojená s bakteriurií je zjišťována v necentrifugované moči u více než 90 procent pacientů s infekcí dolních močových cest, když bakteriurie přesahuje hodnotu 100 000 bakterií, tj. 10^5 v

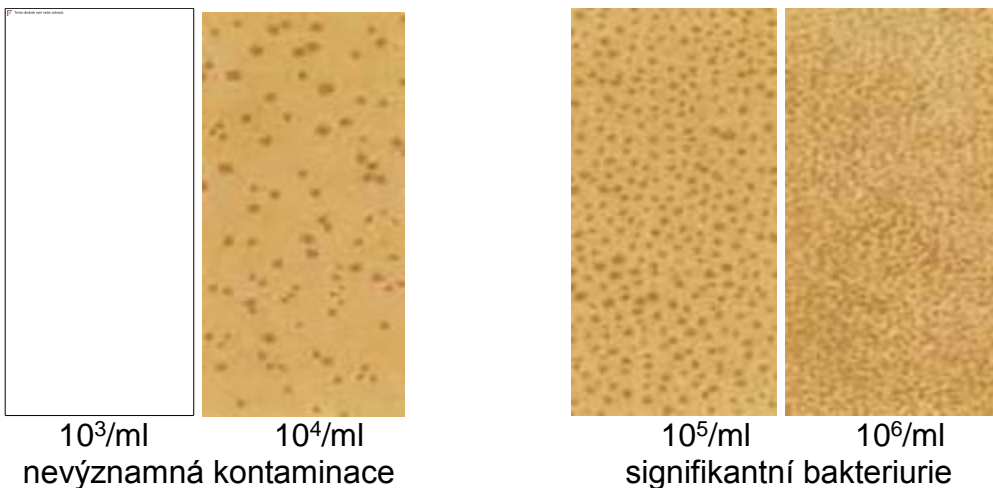
1 mililitru moče. Mikroskopický nález je naopak většinou negativní, jestliže se hodnota bakteriurie pohybuje mezi 100 a 10 000 v 1 mililitru moče.

Kultivačně vyšetřujeme moč kvalitativně, když pátráme po bacilonosičství tyfu a diagnostice TBC, ale i kvantitativně pro stanovení bakteriurie u infekcí močových cest. U kvantitativních metod je důležitý nárůst bakteriálních kolonií na určité ploše kultivační půdy, podle počtu narostlých kolonií pak stanovíme množství bakterií v 1 ml moči. Nález méně než 10^5 je nevýznamný, nález 10^4 představuje suspektní aktivní infekci a nález více než 10^5 a vyšší svědčí pro infekci močových cest. Existují i plně automatizované metody stanovení počtu bakterií, např. nefelometricky. Moč naočkujeme do médií s různými substráty, z nichž každý umožňuje růst určitého druhu bakterií. Pozitivní jsou vzorky moče, které obsahují více než 10^5 CFU (colony forming units) /ml.



Obrázek 20 Uricult

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Obrázek 21 Bakteriurie

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Výsledky kultivace moči, hodnocení a interpretace

Problémem je riziko kontaminace moči při odběru. Moč se obvykle kontaminuje okolní mikroflórou, která osídluje ústí uretry. Jsou to především různé druhy koagulázanegativních stafylokoků, různé druhy korynebakterií, dále u žen to bývají laktobacily a viridující streptokoky. Ke kontaminaci dochází v důsledku nedostatečné hygienické očisty ústí uretry. U pacientů s dlouhodobě zavedenými katétry do uretry je riziko kontaminace ještě vyšší, zejména nozokomiálními kmeny - stafylokoky, nefermentujícími gramnegativními tyčkami a

kvasinkami. V laboratoři mohou být někdy tyto mikroorganismy mylně pokládány za původce infekcí. To by mohlo mít pro pacienta velmi vážné důsledky, protože by byla nevhodně doporučena terapie na základě falešně pozitivního výsledku bakteriální kultivace. Nejvhodnější je vyměnit katétr a zaslat ho i s odebraným vzorkem lege artis do mikrobiologické laboratoře. Oba výsledky kultivací pak porovnáváme. Další možností kontaminace je během zpracování vzorku moči nebo kontaminace kultivačního média v mikrobiologické laboratoři. Většinou se jedná o kontaminaci vzdušnou cestou.

Původci močových infekcí

Rozlišujeme dva hlavní typy mechanismů vzniku infekce: **1. vzestupná cesta** šíření infekce (počátek má obvykle v močovém měchýři) a **2. hematogenní cesta** šíření (do glomerulů a renální kůry u pacientů se sepsí).

Anomálie močových cest, porucha vezikulouretrálního svěrače, porucha odtoku moči z měchýře a především reflux moči z měchýře do ureterů jsou hlavní příčinou infekce u prvního typu.

U hematogenního šíření je to hlavně tvorba mikroskopických abscesů v glomerulech nebo se jedná o hnisavou glomerulonefritidu či pyelonefritidu. U infekcí dolních partií uropoetického systému je zdrojem infekce močový měchýř, u žen poševní flóra a u mužů prostata. Dalšími závažnými infekcemi jsou nozokomiální infekce močového systému v důsledku různých invazivních diagnostických vyšetření a terapeutických zásahů.

Z hlediska etiologie je hlavním vyvolavatelem onemocnění u žen ze 70-80 % *Escherichia coli*. Většinou jsou to kmeny hemolytické, které jsou vybaveny faktory usnadňujícími adhezenci na povrch sliznice. Díky fimbriím odolávají i proudu moči a pevně se drží povrchu sliznice. Dalším nejčastějším agens jsou enterobakterie: *Klebsiella species*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* zejména u pacientů dlouhodobě katetrizovaných s těžkým základním onemocněním (např. diabetes, tumory, hemoblastózy). Dále sem patří také pacienti po transplantacích, u kterých se hodně podílejí na močových infekcích už výše zmíněné gramnegativní bakterie.

Dále jsou to nefermentující (nezkvašující cukry) gramnegativní bakterie - *Pseudomonas aeruginosa* jako nejvýznamnější z dané skupiny. V posledních letech se podílejí na infekcích stále více i jiné druhy pseudomonád (*P. putida*, *P. fluorescens*, *P. stutzeri*).

Velmi častým původcem infekcí močových cest jsou i zástupci rodu *Enterococcus*.

Patří k nim zejména *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Jsou původci chronických prostatitid a často nereagují na antibiotickou terapii. U žen způsobuje infekce taky *Streptococcus agalactiae* – betahemolytický *Streptococcus* sk. B, který může dlouhodobě osídlovat poševní sliznici a u těhotných představuje velké riziko pro novorozence při fyziologickém porodu. Může být vyvolavatelem novorozenecké hnisavé meningitidy.

U osob s narušenou imunitou se na infekcích tohoto typu podílejí stafylokoky – *Staphylococcus aureus* a koagulázanegativní stafylokoky – *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus* a *Staphylococcus hominis*.

Etiologicky velmi významným patogenem může být i *Listeria monocytogenes*, někdy bývá zaměňována za *Streptococcus agalactiae*, jiné hemolytické streptokoky nebo za stafylokoky nebo za *Haemophilus haemolyticus*. U imunitně oslabených pacientů dochází k infekcím, které způsobují tzv. difteroidy – korynebakteria.

Chlamydia trachomatis zejména sérotypy D, E, F, G, H, I, J a K patří v posledních letech k velmi častým původcům uretritid. U žen se společně podílejí také na zánětu cervixu, vejcovodů a děložních adnex. Při nedostatečné a nevhodně zvolené léčbě může docházet ke sterilitě.

Další velmi významnou skupinou patogenů jsou *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum*. Etiologicky se podílejí na vzniku infekcí uretry a u mužů na vzniku infekcí prostaty. Je nutné konstatovat, že přibývá ureaplasmových infekcí.

U imunitně oslabených osob a osob s dlouhodobě zavedeným katétrek infekci močových cest způsobují např. mykobakteria, dále z plísní - *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*. Parazitární agens se na infekcích v mírném podnebném pásmu podílejí velmi vzácně.

Terapie

Správná volba antibiotika podle citlivosti infekčního agens k antibiotikům a účinné dávkování po dostatečně dlouhou dobu jsou jednou z nejdůležitějších zásad při terapii. Zvolené antibiotikum musí vytvářet účinnou hladinu v moči, v krvi a v parenchymu ledvin při postižení vyšších pater uropoetického systému.

V léčbě obecně platí, že akutní infekce dolních močových cest (uretritidy, cystitidy) kryjí chemoterapeutika typu furantoinu nebo oxolinové kyseliny. Tato léčiva vytvářejí vhodné koncentrace v moči, ale nikoliv ve tkáních. Nehodí se proto pro léčbu infekcí, které postihují ledvinový parenchym. Při glomerulonefritidách a pyelonefritidách je nutné zahájit terapii látkami dosahujícími vysokých koncentrací nejen v moči, ale i v parenchymu ledvin. Především se jedná o léčiva, která jsou vylučována z organismu renální cestou. Patří k nim betalaktamová antibiotika (peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy), aminoglykosidy nebo chinolony.

Původci uroinfekcí patří k nejrezistentnějším agens k antibiotikům způsobujících nozokomiální nákazy. Z tohoto důvodu je velmi důležité testovat citlivost každého takového kmene a nasazovat cílenou antibiotickou terapii podle aktuálního antibiogramu hned od začátku infekce. Dále pak není vhodné plýtvat rezervními preparáty, určenými výhradně k léčbě těžkých stavů, infekcí vyvolaných polyrezistentními kmeny bakterií a k léčbě rizikových pacientů.

Podle nejnovějších studií a poznatků se rezistence více objevuje v posledních letech u *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* a *Proteus mirabilis*. Nejčastějším patogenem je nadále *Escherichia coli*. Byla zaznamenána vyšší rezistence u kmenů z urologických ordinací než z ordinací jiných. Narůstá rezistence zejména k chinolonovým antibiotikům. Lékem volby nadále zůstávají – furantoin a co-trimoxazol. Častěji jsou detekovány kmeny s tvorbou **ESBL** – širokospektrální β -laktamázy. Širokospektré β -laktamázy - ESBL (extended-spectrum β -lactamases) jsou enzymy produkované některými mikroby, které hydrolyzují peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Velmi nebezpečné jsou tyto mikroorganismy pro svou vysokou rezistenci. V případě výskytu je nutné dodržovat velmi přísné hygienické zásady.

Hodnocení kvantitativního vyšetření moči

Hodnocení kvantitativního vyšetření moči se provádí pomocí počtu CFU (colony forming units - počet buněk, z nichž mohou vyrůst nové kolonie) v 1 ml moče.

méně než 10^3

Nález není klinicky významný, pravděpodobně se jedná o kontaminaci např. *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium sp.*, gramnegativní tyčky, *Candida albicans*.

do 10^4

Nález je u „běžných“ pacientů většinou klinicky nevýznamný, ale u imunodeficientních pacientů a dětí, dialyzovaných pacientů, musíme tyto nálezy posuzovat opatrně.

10⁴

Hraniční hodnota pro klinicky významné nálezy u malých dětí a výše uvedených rizikových pacientů.

10⁴-10⁵

Klinicky významný nález ve většině případů u malých dětí, dospělých s opakovaným nálezem a u rizikových pacientů - nutno odlišit od možné kontaminace.

10⁵

Hraniční hodnota pro signifikantní uroinfekci u dospělých.

více než 10⁵

Klinicky významný nález svědčící pro infekci močových cest.

nálezy více než 1 druhu mikrobů

Tyto nálezy jsou časté u starých dlouhodobě hospitalizovaných osob.

10⁵

CFU v 1 ml moče imunitně oslabených a diabetiků. Význam má opakovaný průkaz toho samého druhu infekčního agens. Jinak se opět může jednat o kontaminaci nebo nesprávně provedený odběr moče.

8.4 Původci bakteriálních sexuálně přenosných infekcí

Sexuálně přenosná onemocnění se přenášejí pohlavním stykem. Můžeme je rozdělit na:

1. klasické pohlavní (venerické) infekce (gonorrhoea, syfilis, ulcus molle, granuloma inguinale a lymphogranuloma venereum)

2. ostatní sexuálně přenosné infekce (infekce způsobované bakteriemi, viry, plísněmi a parazity).

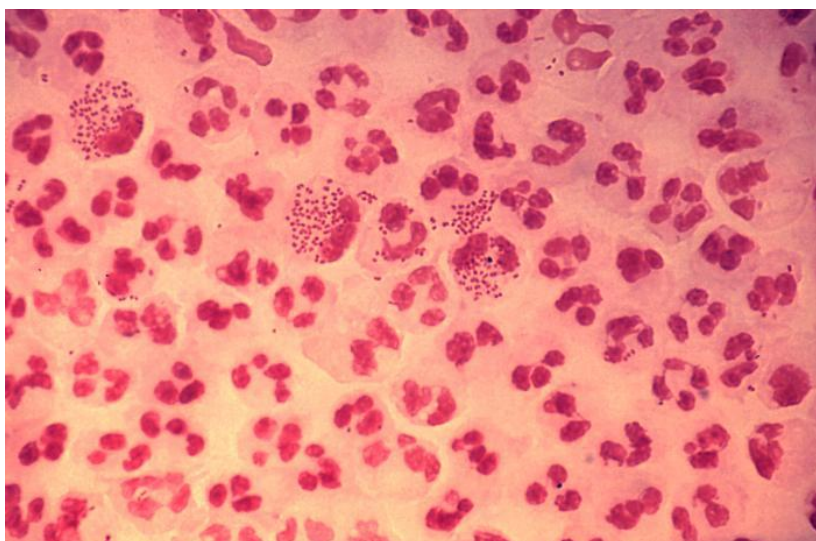
Výskyt těchto infekcí úzce souvisí se sexuálními zvyklostmi a chováním. K přenosu dochází slinami, spermatem, sekrety sliznic a krví.

Klinický nález a diagnostika infekcí sexuálně přenosných

Gonorrhoea – kapavka

Původcem tohoto onemocnění je *Neisseria gonorrhoeae*. Infekce se velmi často vyskytuje souběžně s chlamydiovou infekcí. U obou pohlaví bývá nejčastější formou uretritida. Ze začátku je nekomplikovaná, později může snadno přejít do chronického stádia. Především u žen dochází k přechodu infekce na závěsný aparát děložní (adnexitis), na vejcovody (salpingitis). U mužů se jedná dále kromě uretritidy především o orchitidu, epididymitidu nebo prostatitidu. Dále se kapavka projevuje jako kapavčitá proktitida zejména u lidí, kteří provozují anální styk. Tento patogen vyvolává infekce lokalizované i jinde v organismu, např. faryngitidu nebo u novorozenců blenorrhoea neonatorum – novorozenecký zánět spojivek. Prevencí tohoto onemocnění u novorozenců je kredeizace – vykapávání obou spojivkových vaků Ophthamo-Septonexem hned po narození.

Akutní formy kapavky se léčí velmi dobře (citlivý je pořád Penicilin), ale složitější je situace u chronických forem kapavky, kdy většina kmenů *N. gonorrhoeae* produkuje betalaktamázu. Lékem volby se pak stává Augmentin, makrolidy nebo doxycyklin.



Obrázek 22 *Neisseria gonorrhoeae* - barvení dle Grama
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Obrázek 23 Gonoková uretritída
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Obrázek 24 *Blenorrhoea neonatorum*Zdroj: <http://www.venerologie.cz/onemocneni/kapavka/>

Syfilis

V posledních letech se začíná více objevovat toto onemocnění v naší populaci zejména u cizinců žijících na území ČR. Původcem je spirochéta *Treponema pallidum*. Pokud se syfilis neléčí, tak přechází do chronicity a probíhá ve třech stádiích. Přímá laboratorní diagnostika – mikroskopicky (nativní preparát se prohlíží v temném poli zástinového mikroskopu) se provádí v 1. stádiu (ulcus durum, tvrdý vřed a regionální lymfadenitis) a 2. stádiu (generalizovaný exantém, lymfadenitis, meningitis, hepatitis) z kožních a slizničních lézí. *Treponemata* je možné pozorovat z lézí v primárním a sekundárním stádiu onemocnění a u časných kongenitálních syfilis. Pro mikroskopii v zástinu se používá většinou exsudát ze spodiny léze. Třetí stádium je charakteristické postižením různých orgánů – hlavně CNS. Pro diagnostiku syfilis je důležitý klinický nález a pozitivní sérologický nález ověřený konfirmací v NRL SZÚ pro diagnostiku syfilis.

Sérologická – nepřímá diagnostika se provádí vždy testem TPHA (*Treponema Pallidum* Hemagglutination Assay) - specifický test, který detekuje protilátky namířené proti antigenu treponem (přibližně od 5.-6. týdne po infekci). Dále je možné použít test RRR (Rychlá reaginová reakce) kdy se zjišťuje přítomnost nespecifických protilátek proti kardiolipinu, který je součástí buněčných membrán savčích buněk, uvolňuje se ze zničených buněk v místě infekce, na což imunitní systém reaguje tvorbou protilátek nebo ELISA testy (enzyme-linked immunosorbent assay).

Lékem volby nadále zůstává penicilin (vysoké dávky) event. erytromycin. Všechny nové případy podléhají hlášení a evidenci.



Obrázek 25 *Ulcus durum*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Obrázek 26 Syfilitický exantém

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Lymphogranuloma venereum a infekce způsobené *Chlamydia trachomatis*

Stále častěji se objevují u lidí infekce způsobené chlamydiemi. Jednak jsou to infekce přenášené pohlavním stykem postihující pohlavní orgány a dále taky infekce způsobující záněty dolních cest dýchacích. U žen *Chlamydia trachomatis* sérotyp D způsobuje mukopurulentní cervicitidu, uretritidy, bartolinitidy, proktitidy, zánětlivé onemocnění malé pánve, nebo záněty děložních adnex. V řadě zemí až 65 % zánětů adnex je u žen chlamydiového původu.



Obrázek 27 Chlamydiová infekce u muže
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Obrázek 28 Chlamydiová infekce genitálu u ženy
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Lymphogranuloma venereum představuje postižení přilehlých lymfatických uzlin urogenitálu. Toto onemocnění způsobují sérotypy L1, L2 a L3 *Chlamydia trachomatis*. **Trachom**, který postihuje oči a vede ke slepotě, způsobují sérotypy A, B, Ba a C – endemicky se vyskytuje v tropech zejména v oblastech s nižším hygienickým standardem. Lékem volby jsou moderní makrolidy, chloramfenikol, tetracykliny.

Ulcus molle

Původcem je gramnegativní tyčka *Haemophilus ducreyi*. Měkký vřed neboli ulcus molle (chancroid) je hnisavá léze, která se postupně rozpadá a vzniká vřed. Současně jsou zduřelé také regionální lymfatické uzliny. Výskyt je hlavně v Africe.



Obrázek 29 Měkký vřed

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Granuloma inguinale – Donovanova choroba

Původcem onemocnění je drobná tyčka *Calymmatobacterium granulomatis*. Infekce se vyskytuje především v teplejších oblastech. Projevuje se jako plazivý [vřed](#) s hypertrofickou spodinou. Při progresi onemocnění se šíří do okolí. Zvláštností této bakterie je, že má vzhled zavíracího špendlíku v mikroskopickém preparátu.



Obrázek 30 Granuloma inguinale

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Infekce způsobené ostatními bakteriemi

Gardnerella vaginalis se společně s anaerobními bakteriemi velmi často podílí na vaginitidách. Onemocnění označujeme jako **bakteriální vaginóza** a charakteristická je produkce vazkého hlenu s typickým zápachem po rybině (tzv. fish odor). Příčinou infekce je pravděpodobně hormonální dysbalance, která vytváří podmínky pro pomnožení gardnerel. Důsledkem je také nerovnováha v přítomnosti a vyváženosti bakteriálních druhů osídlicích

poševní sliznici žen, především směsi laktobacilů. Anaerobní bakterie způsobují záněty pochvy nebo děložního hrdla.

Z dalších bakterií způsobujících bakteriální vaginózu to jsou betahemolytické streptokoky - *Streptococcus agalactiae*. Enterokoky mohou být původci kolpitud a prostatitid.

Původci bakteriální vaginózy jsou i stafylokoky – *S. aureus*, *S. hominis* nebo *S. haemolyticus*. Koaguláza negativní stafylokoky podílející se na zánětech jsou velkým problémem a takovéto infekce jsou obtížně léčitelné. Vzhledem k anatomickým podmínkám se entetobakterie velmi často podílejí na vzniku vaginitid a prostatitid. Hlavními patogeny jsou *Escherichia coli*, *Proteus sp.* *Klebsiella* nebo *Enterobacter*, z nefermentujících bakterií hlavně *Pseudomonas aeruginosa*.

Mykoplazmata a ureaplazmata stále častěji vyvolávají infekce pohlavních orgánů u mužů i žen.

Virová, parazitární a mykotická etiologie STD – stručný přehled

Virové STD infekce

HIV1 a HIV2 – způsobující klinicky AIDS, z herpetických virů především HSV 2 – herpes genitalis, cytomegalovirus. Dále to je HPV 3 – human papilloma virus způsobuje infekci – condylomata accuminata – genitální bradavice. Poxviry vyvolávající infekci molluscum contagiosum řadíme také k STD.

K pohlavně přenosným onemocněním patří i hepatitida B.

Parazitární STD infekce

U nás jsou způsobované hlavně *Trichomonas vaginalis* u žen i u mužů. Metronidazol je v terapii těchto onemocněním lékem volby.

Mykotické infekce

genitálií způsobují především kandidy – *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* a *C. krusei*.

Mikrobiální obraz poševní

Patří k nejdůležitějším kritériím hodnocení poševního sekretu a diagnostiky zánětlivých poševních onemocnění. Jedno sklíčko s nátěrem se vždy obarví metodou podle Grama – slouží k dg. bakterií a kvasinek a druhé sklíčko s nátěrem je obarveno podle Giemsky a slouží k dg. trichomonád. Obě sklíčka je nutné hodnotit současně, aby byl diagnostický závěr správný a co nejoptimálnější vzhledem k danému nálezu.

MOP 0

Charakterizuje **mikrobiální obraz poševní u dítěte** – u holčiček do období puberty a začátku první menstruace. Poševní sliznice je v tomto období osídlena trvale streptokoky, difteroidními tyčkami a enterobakterií *Escherichia coli*.

MOP I

Popisuje situaci na sliznicích pochvy **u zdravých žen** od osídlení sliznice směsí *Lactobacillus*, přes fertilní věk až do období klimakteria včetně. U většiny žen převládá toto osídlení laktobacily ve fertilním věku. Kromě epitelů a leukocytů zde nalézáme taky difteroidní tyčky, viridující streptokoky a anaerobní bakterie.

MOP II

Mikrobiální výtok nehnisavý – klinicky se může vyskytovat u zdravých žen, ale může představovat i bakteriální vaginózu. Sekret bývá mléčně zkalený nebo nažloutlý, vazký nebo hustší. Obsahuje méně laktobacilů, převažují kokobacily a drobné rohlíčkovité tyčky. Grampozitivní koky v řetízcích mají jednoznačně převahu, takže se nejedná o fyziologický stav.

MOP III

Bakteriální výtok hnisavý je charakterizován přítomností množství polymorfonukleárních leukocytů a různých bakterií. Laktobacilů je minimum nebo úplně chybí. Převažuje přítomnost pyogenních streptokoků, stafylokoků, enterokoků, ale i gramnegativních tyčinek. Mikrobiální obraz poševní III klinicky charakterizuje hustý bělavý až nažloutlý výtok.

MOP IV

Popisuje se u **akutní** a **chronické kapavky**. Klinický nález je představován žlutobílým až žlutozeleným výtokem. V MOPu u akutní kapavky převažují leukocyty a intracelulárně i extracelulárně uložené gramnegativní diplokoky (*Neisseria gonorrhoeae*). MOP u chronické kapavky obsahuje většinou i příměs jiných bakterií, malé množství epitelů a leukocyty.

MOP V

Popisuje parazitární infekci – **trichomonózu** vyvolanou bičíkovcem *Trichomonas vaginalis*. Klinicky je přítomen výtok bílý, řídký, často zpěněný.

Trichomonády se dobře pozorují obarvené metodou podle Giemsy (fialové červená jádra a zrnitá namodralá cytoplazma) nebo v nativním preparátu. Dále pak pozorujeme epitelie, leukocyty, laktobacily i další bakterie.



Obrázek 31 *Trichomonas vaginalis*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

MOP VI

Mikrobiální obraz poševní VI popisuje **kandidózu**, jak **akutní** tak **chronickou**. Přítomnost kvasinek – oválných blastospor s pseudomyceliemi je velmi výrazná. Přítomny jsou další bakterie, hlavně laktobacily, nález může být bez, i s leukocyty.



Obrázek 32 Kandidóza

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

8.5 Původci bakteriálních neuroinfekcí

Na úvod této kapitoly je důležité podotknout, že v našich podmínkách patří infekce centrálního nervového systému k těm vzácnějším. Statistické údaje nám ukazují, že např. bakteriální meningitidou onemocní 2-3 lidé u nás na 100 000 obyvatel/ročně. Smrtnost u tohoto onemocnění je ale podle statistických údajů vyšší než 70 %.

Centrální nervový systém je velmi dobře chráněný, co se týče možné patogeneze onemocnění, ale zároveň je velmi zranitelný a citlivý. Hematoencefalická bariéra a kosti lebky poskytují mozku dostatečnou ochranu. V případě, že tyto obranné mechanismy selhávají, může být poškození CNS velmi závažné. Vznik zánětu má ničivé důsledky na neurony a hematoencefalickou bariéru v omezeném nitrolebním prostoru. V důsledku této situace pak neprochází bariérou protilátky a buňky imunitního systému.

Do centrálního nervového systému se původci infekčního onemocnění dostávají buď přímo anebo z periferních částí, kde se nachází infekční ložisko. Infekce se šíří třemi způsoby z periferie: **hematogenní cesta** (tímto způsobem se šíří např. meningokoky), **cestou per continuitatem** ze sousedících tkání a orgánů (např. hemofily nebo pneumokoky ze středního ucha přes os temporale) a ještě **podél periferních nervů** (např. herpetické viry, virus vztekliny). Do CNS se přímo mikroorganismy dostávají po poranění (většinou fraktura baze lebky) jsou to např. stafylokoky, pneumokoky, nokardie, aspergily.

Infekční onemocnění centrálního nervového systému můžeme rozdělit podle etiologie, která souvisí s délkou nemoci a s typem nemoci do těchto skupin:

1. akutní meningitidy, 2. chronické meningitidy, 3. encefalitidy, 4. akutní mozkové abscesy 5. chronické mozkové abscesy.

1. Akutní meningitidy

Máme-li podezření na akutní meningitidu, musíme rozlišovat, jestli se jedná o **hnisavou – purulentní meningitidu** (většinou bakteriálního původu) anebo jestli se jedná o aseptickou meningitidu (virového původu). Vždy musíme brát v úvahu anamnézu a klinický nález a vždy vyšetřit likvor po provedení lumbální punkce.

Z likvoru provádíme biochemické (vyšetřujeme hladinu glukózy a proteinů), cytologické (popisujeme charakter a množství přítomných buněk) a mikrobiologické vyšetření (mikroskopický průkaz, průkaz antigenů, příp. kultivace mikrobů).

Bakteriální meningitidy – nacházíme vysoký počet polymorfonukleárních buněk, zvýšenou hladinu bílkovin a glukózy (spotřeba stoupá metabolizujícími bakteriemi).

Virové meningitidy – počet buněk je zvýšený, převažují lymfocyty, hladina bílkovin bývá zvýšena pouze nepatrně, glukóza zůstává v normě. Etiologie bakteriálních meningitid je rozdílná v souvislosti s věkem.

Bakteriální meningitidy

Orientační rozdělení nejčastějších původců bakteriálních meningitid v závislosti na věku nemocného.

Novorozenci – *Streptococcus agalactiae*, enterobakterie (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*), *Listeria monocytogenes*

Kojenci a batolata – *Haemophilus influenzae b*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*

Předškolní věk – *Haemophilus influenzae b*, *Neisseria meningitidis*, stafylokoky, enterobakterie, jiné druhy streptokoků, *Streptococcus pneumoniae*

Školní věk a mladí dospělí – *Neisseria meningitidis*, stafylokoky, enterobakterie, jiné druhy streptokoků, *Streptococcus pneumoniae*

Dospělí – *Streptococcus pneumoniae*, ostatní bakterie (stafylokoky, enterobakterie, jiné druhy streptokoků)

Senioři (věk > 60 let) – *Streptococcus pneumoniae*, ostatní mikroorganismy včetně *Listeria monocytogenes*

Vysokou úmrtnost a rychlý průběh mají zejména bakteriální meningitidy způsobené *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* a *Neisseria meningitidis*.

U hnisavých meningitid se odebírá likvor lumbální punkcí za přísně aseptických podmínek. Důležitý je rychlý transport při teplotě 37 °C (především neisserie jsou velmi citlivé) a správná diagnostika, nejpozději do 2 hodin od odběru biologického materiálu – orientační informace o původci. Mozkomíšní mok se musí ihned zpracovat. Hodnotí se makroskopicky – pohledem (čirý, zkalený, s příměsí krve), po centrifugaci se zhotoví mikroskopický preparát. Orientačně lze nahlásit mikroskopický nález (mikroskopický preparát obarvený Gramem). Rychlým latex - aglutinačním testem lze dourčit patogena, ale vždy diagnostiku doplňujeme o standardní mikrobiologickou diagnostiku. Zbylý mok si ponecháváme pro další diagnostické postupy. Při podezření na sepsi odebíráme také krev – hemokulturu ke kultivaci, příp. provádíme výtěr z nasofaryngu a tonzil, event. vyšetřujeme obsah petechií. Musíme postupovat správně, účelně a neprodleně, rychle, neboť infekce může postupovat velmi rychle. Meningokok se po obarvení jeví jako růžové až růžově červené diplokoky uložené intracelulárně nebo extracelulárně. Při zpracovávání materiálu musíme obzvláště dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci a nebyl zkreslen výsledek mikrobiologického vyšetření. Antibioqram stanovujeme u čistého pasážovaného kmene. U mnohých lidí nacházíme v populaci ve výtěrech z nosu *Neisserii meningitidis*. Jsou nosiči, ale klinicky se u nich onemocnění nemusí projevit, pro okolí však mohou představovat nebezpečí. Moderní metodu – dg. DNA pomocí

PCR je vhodné také použít, pokud laboratoř tyto možnosti má. Veškeré nálezy se okamžitě oznamují ošetřujícímu lékaři telefonicky.

Virové meningitidy

Aseptické meningitidy - virové jsou častější. Původce prokazujeme přímo i nepřímo. Likvor se vyšetřuje kultivací na tkáňových kulturách, ale preferujeme diagnostiku DNA metodou PCR. Pro nepřímou diagnostiku odebíráme 2 vzorky, tzv. akutní a rekonvalescentní vzorek, abychom detekovali dynamiku v protilátkové odpovědi. K původcům patří enteroviry – ECHO a Coxsackie, herpes simplex, varicella – zoster virus, virus evropské klíšťové encefalitidy, virus parotitidy jako komplikace parotitis epidemica. V posledních dvou až třech letech se stále častěji vyskytuje více případů onemocnění parotitidou u dětí i u dospělých. Nesmíme proto zapomínat na možnou komplikaci vzniku aseptické meningitidy právě v souvislosti s tímto onemocněním. U dětí se může projevovat v našich podmínkách ve 2. stadiu jako serózní meningitida také lymeská borelióza. K projevům onemocnění dochází až po několika týdnech nebo měsících po infekci.

Diagnostika lymeské boreliózy v současných laboratorních podmínkách

Spirochéty:

Jsou to spirálovité bakterie, aktivně pohyblivé, patřící do řádu Spirochetales (2 čeledi - 8 rodů). K medicínsky důležitým patří 3 rody: *Borrelia*, *Treponema* a *Leptospira*.

Rod *Borrelia*:

- je to gramnegativní spirálovitá bakterie s nepravidelnými závití
- pohyb dobře pozorovatelný v zástinovém mikroskopu

Rod *Borrelia* zahrnuje tyto mikroorganismy:

- *Borrelia burgdorferi* – lymeská borelióza
- *Borrelia recurrentis* – návratná horečka
- *Borrelia hermsii* – návratná horečka
- *Borrelia vincentii* – ulcerace v orofaciální oblasti

Epidemiologie:

Borelie se přenáší na člověka členovci. U nás především klíšťaty - *Ixodes ricinus*, dále není vyloučena možnost přenosu komáry. Členovci sají krev rezervoárových zvířat – ptáků a hlodavců, tím se infikují a pak, když se přisají na kůži člověka a sají krev, dochází k přenosu borelií do lidského organismu. Tato bakterie je mikroaerofilní a v laboratorních podmínkách je obtížně kultivovatelná.

Obrana makroorganismu je manifestovaná buněčnou protilátkovou odpovědí.

Buněčná protilátková odpověď je představovaná především CD4 a CD8 lymfocyty a makrofágy. Protilátková odpověď je zaznamenána jako výskyt protilátek ve třídě IgM a ve třídě IgG.

Borelie jsou extracelulární bakterie a charakteristická je pro ně penetrace do buněk. Projevuje se to v makroorganismu intracelulární lokalizací ve fibroblastech. K aktivaci NK buněk dochází teprve po infekci.

Lymeská borelióza – klinický obraz:

1. časně lokalizované stádium
2. časně disseminované stádium
3. pozdní stádium – chronické

1. časné lokalizované stádium:

- je charakterizované vstupem borelií do kůže - při sání infikovaného klíštěte
Erytema migrans se objevuje za 3-30 dní, prvotní klinické příznaky za 7-10 dní.
Onemocnění doprovázejí nespecifické příznaky – bolesti hlavy, zvýšená teplota, nechutenství, únava, bolest kloubů a svalů, lymfadenitida.

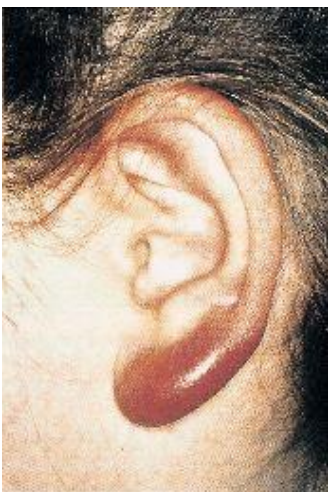


Obrázek 33 *Erytema migrans*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

2. časné disseminované stádium:

- hematogenní disseminace borelií do celého organismu je typická pro 2. stádium onemocnění
- kožní projevy s charakteristickým boreliovým lymfocytomem
- neurologické, revmatologické a kardiální projevy
Přibližně 3.-4. týden od vstupu borelií do organismu dochází k tvorbě IgM protilátek, 4.-6. týden se začínají tvořit IgG protilátky.



Obrázek 34 *Boreliový lymfocytom*

Zdroj: <http://www.zdravi.e15.cz>

3. pozdní stádium

Pro pozdní stádium je typické onemocnění ACA – acrodermatitis chronica atrophicans (degenerace podkoží), dále to je artritida, karditida, chronická progresivní encefalitida, chronická polyneuritida.

Sérologický nález představuje tvorba IgM a IgG protilátek.



Obrázek 35 *Acrodermatitis chronica atrophicans*

Zdroj: <http://www.inf3.lf1.cuni.cz>

Laboratorní diagnostika:

- stanovení protilátek ve třídě IgM a IgG metodou ELISA
 - stanovení specifických protilátek metodou Western Blot
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) v Atlantě v USA doporučuje pro testování a diagnostiku lymeské boreliózy používat 2 odlišné testovací systémy. U nás se většinou používá metoda ELISA a metoda Western Blot.

Humorální reakce organismu na infekci je typická pozdní tvorbou protilátek. Tento fakt musíme vždy při diagnostice této infekce brát v úvahu a nesmíme na to zapomínat.

IgM protilátky jsou detekovatelné po 2-4 týdnech od počátku infekce, vrchol je mezi 3.-8. týdnem. Do 1-3 měsíců vymizí. Odběr krve na vyšetření se doporučuje po 3-6 týdnech od přisátí klíštěte.

IgG protilátky jsou detekovatelné v době od 4.-8. týdne od infekce, přetrvávají několik let, nemají protektivní charakter.

Vyšetření protilátek prováděné metodou ELISA a WB:

- doporučení je nejdříve po 3 týdnech od přisátí klíštěte
 - biologický materiál – sérum (EDTA, heparin), likvor nebo punktát vyžaduje speciální ředění
 - sérologický nález – negativní nebo hraniční (v případě rozporu s klinickým stavem) – provádíme kontrolní odběr za 2 týdny
 - sérologický nález – pozitivní – výsledek vyšetření metodou ELISA doplníme pak vyšetřením WB
 - WB – negativní (jiný důvod infekce)
- WB – pozitivní – léčba ATB (kontrolní odběr za 2-3 měsíce)

Interpretace výsledků ELISA testů:



- **IgM+ IgG-** primoinfekce,
- **IgM+ IgG-** akutní fáze doznívá, reaktivace
- **IgM- IgG+** anamnestická hladina protilátek, chronický stav

Moderní terapie lymeské boreliózy

- Tetracykliny (Doxycyklin) – lék první volby
- Peniciliny (Amoxicilin) – děti a těhotné ženy
- Makrolidy (Azythromycin) – pacienti s alergií na peniciliny
- event. Cefalosporiny (Cefuroxim axetil)
- Délka léčby: 14-21 dnů v čas. stad.

Některá pracoviště vyšetřují přímo i klíště při podezření, že je infikované.

2. Chronické meningitidy

Chronické meningitidy způsobují mykobakteria (*Mycobacterium tuberculosis*) klinicky se jedná o bazilární meningitidu nebo jsou původci mykotická agens – aspergily, či *Cryptococcus neoformans*. U bazilární meningitidy se jedná o nahromadění zánětlivých změn na bazi lební. Je nutné pro úspěšnou mikrobiologickou diagnostiku uvést pro laboratoř informace o podezření na kryptokokovou nebo tuberkulózní etiologii. Pouze tehdy může mikrobiologická laboratoř zvolit vhodný diagnostický postup od začátku. Jedná se např. o zvolenou barvicí techniku - průkaz acidorezistentních tyček barvením podle Ziehl–Neelsena, doplňující vyšetření – průkaz kryptokokových pouzder barvením pomocí tuše. Vzorek mozkomíšního moku je čirý, u bazilární meningitidy můžeme hodnotit přítomnost tzv. fibrinové sítě. K růstu mykobakteria je potřeba založit dlouhodobou kultivaci (6-9 týdnů trvá kultivace, někdy i 12 týdnů). Kryptokoky kultivujeme také déle než např. kandidy, 10-14 dnů, někdy i déle. K průkazu DNA metodou PCR se používají v tomto případě speciální primery. **Primer** je řetězec nukleové kyseliny DNA, RNA, který slouží jako počáteční místo replikace DNA či RNA.

3. Encefalitidy – akutní encefalitidy

Do této skupiny onemocnění řadíme především akutní encefalitidy virové etiologie. K nejvíce se vyskytujícím původcům patří virus klíšťové encefalitidy, virus herpes simplex, některé enteroviry. Poměrně častá je bezpříznaková meningoencefalitida vyvolaná virem parotitidy, většinou jako komplikace příušnic. Je nutno podotknout, že všechny virové infekce způsobují dráždění centrálního nervového systému. Opět kombinujeme přímý i nepřímý průkaz etiologického agens. V současnosti se prokazuje v likvoru DNA původce herpesvirové nekrotizující encefalitidy metodou PCR. Dříve se používala imunofluorescenční metoda.

4. Akutní mozkové abscesy

Etiologie u mozkových abscesů je bakteriální. Většinou se jedná o smíšenou aerobní a anaerobní, fakultativně anaerobní flóru. Původci bývají různé druhy stafylokoků, streptokoků, enterokoky, enterobakterie, z anaerobů – peptokoky, peptostreptokoky. K dalším původcům patří *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, nokardie, betahemolytické streptokoky sk. A a D. Současně vyšetřujeme likvor i hemokulturu. Nejvhodnější pro detekci původce je získání obsahu abscesu punkcí. Antibiotická terapie se vždy řídí výsledkem stanovení citlivosti k antibiotikům.

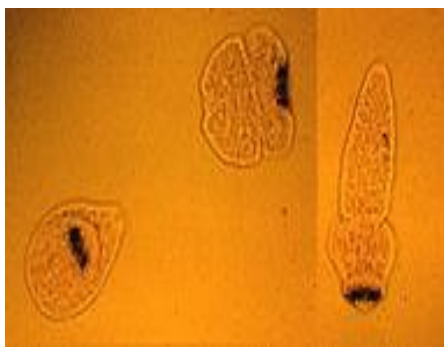
5. Chronické mozkové abscesy

Mozkové abscesy chronické představují ohraničená ložiska v mozkové tkáni. Z pohledu etiologie se může jednat o bakterie, plísňe nebo parazity. K bakteriálním původcům patří –

Mycobacterium tuberculosis, *Nocardia asteroides*, grampozitivní koryneformní tyčky – *Rhodococcus equi*. Mykotická agens zahrnují hlavně – aspergily a *Cryptococcus neoformans*. Z parazitů jsou to zejména – *Cysticercus cellulosae* (tasemnice dlouhočlenná), dále je to hydatóza - tkáňová helmintóza způsobená larválním stadiem tasemnice *Echinococcus granulosus* (měchožil zhoubný).

Diagnostikovat v laboratoři původce tohoto typu není vůbec snadné. Vhodně kombinujeme bakteriologická vyšetření včetně dlouhodobé kultivace a vyšetření parazitologická i mykologická. Mikroskopický průkaz je v tomto případě stěžejní, stejně tak cytologické vyšetření. Můžeme zvolit i doplňující nepřímou sérologickou diagnostiku – průkaz protilátek proti aspergilům a tkáňovým parazitům.

Diagnostický závěr provádíme současně s anamnézou a klinickým nálezem.



Obrázek 36 Echinokokóza - larvy měchožila v mikroskopu

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

8.6 Původci ostatních bakteriálních infekcí

K ostatním bakteriálním infekcím, o kterých v této podkapitole bude zmínka, patří sepse, infekce oka, infekce ran, kostí a měkkých tkání a infekce kůže.

Sepse

Jedním z velmi těžkých stavů u pacienta je zdravotní stav charakterizovaný sepsí, což znamená česky – otrava krve. Z řeckého sepsis - značí hnilobu nebo hnilobný proces. Jedná se o velmi závažný klinický stav pacienta, kdy původcem onemocnění je infekční agens. Sepse představuje generalizovanou infekci, často je sepse vyvolána pyogenními mikroby. Zdrojem může být ložisko v různých lokalizacích, někdy se ani nedá najít. **Pyemie (septikemie)** - těžký septický toxoinfekční stav, při kterém cirkulují v krvi shluky mikrobů nebo infikované tromby.

Typickým klinickým nálezem u sepse je horečka nebo hypotermie, tachykardie, hypotenze a snížená diuréza. Z hlediska patologické fyziologie se jedná o zvýšený srdeční výdej při sníženém periferním odporu cév. **Sepse je definovaná jako závažné systémové onemocnění vyvolané interakcí mikrobiálních produktů s buňkami retikuloendoteliálního systému, s hemodynamickými změnami a výrazně zhoršenou funkcí orgánů.**

Toto systémové postižení můžeme označovat jako septický syndrom.

Patogeneze sepse je charakteristická mikrobiálním procesem, který se rozvíjí z lokalizované infekce. Pro vznik sepse musí být splněny tři podmínky: 1. vznik velké populace mikroorganismů, 2. přítomnost bakteriálních produktů stimulujících uvolňování cytokinů a 3.

rozsáhlá disseminace těchto mikrobiálních produktů. Na etiologii sepse se podílí velmi často endotoxiny po rozpadu gramnegativních bakterií a DNA grampozitivních bakterií. Produkty mikroorganismů působí na makrofágy a jejich zásluhou se uvolňuje TNF - alfa (tumor nekrotizující faktor alfa).

Makrofágy jsou TNF – alfa stimulovány k produkci interleukinu -1. Poškozený endotel kapilár vede ke vzniku mikrovaskulárních trombů, následně pak k disseminované intravaskulární koagulaci. Dále dochází masivně k periferní vazodilataci a i navzdory zvýšenému srdečnímu výdeji je nedostatečné prokrvení orgánů. To vede k dechovým potížím, akutnímu renálnímu selhání, postižení vědomí a metabolické acidóze.

Diagnózu sepse lze určit na základě klinických příznaků – snížení tělesné teploty, zrychlení tepu, nauzea, zmatenost a hypotenze. Důležité jsou laboratorní nálezy – leukocytóza nebo leukopenie, hemokoagulační poruchy, známky metabolicko-respirační acidózy, zvýšené zánětlivé markery.

Příčiny a výskyt bakteriémie:

1. Bakteriémie přechodná se může vyskytovat u mnohých infekcí lokalizovaných v různých orgánech. Může to být pneumonie (*Streptococcus pneumoniae*), meningitída (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcusagalactiae* u novorozenců), pyelonefritidy (*Escherichia coli*), osteomyelitidy a septické artritidy (*Staphylococcus aureus*), cholecystitidy – enterobakterie i salmonely, peritonitidy (aerobní i anaerobní bakterie), tzv. rané infekce (*Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*) a např. dekubity (etiologicky smíšená flóra kůže a střevní flóra aerobní i anaerobní).
2. Bakteriémie kontinuální, kdy se jedná o příznak celkových infekcí, např. břišní tyfus nebo brucelóza.
3. Bakteriémie u flebitid, tromboflebitid, endokarditid nebo endarteritid. Akutní endokarditidu způsobuje *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* i *Neisseria gonorrhoeae*. Původci subakutních a chronických endokarditid jsou viridující streptokoky, enterokoky, *Haemophilus sp.* a jiné. Na chlopních se usídlují hlavně koaguláza negativní stafylokoky – *Staphylococcus epidermidis* a i některá korynebakteria.
4. Bakteriémie jako jeden z příznaků některých maligních procesů, např. *Streptococcus bovis* v krvi u karcinomu tlustého střeva, kvasinka – *Candida krusei* a další.
5. Bakteriémie iatrogenní je vyvolaná lékařským zákrokem, např. po extrakci zubů – ústní streptokoky *Streptococcus salivarius* a *Streptococcus mutans*. Mohou se pak usazovat na poškozených srdečních chlopních a vyvolávat endokarditidy. Katetrizace močových cest, intravenózní infuze, infikované chlopně a spojky (shunty) jsou místem vstupu infekce, jejichž původci jsou koaguláza negativní stafylokoky.
6. Bakteriémie jako následek intravenózní aplikace drog, zejména nesterilními injekčními soupravami a bez dezinfekce místa vpichu.

Závěrem můžeme říct, že nejčastějšími patogeny podílejícími se na vzniku sepsí jsou gramnegativní tyčky – *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* z nefermentujících tyček *Pseudomonas aeruginosa*, dále sem patří koaguláza negativní stafylokoky - *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, pak anaerobní bakterie, kvasinky.

Pro optimální diagnostiku je nutné odebírat hemokulturu „lege artis“, aby nedocházelo k falešně negativním a falešně pozitivním výsledkům a abychom nepoškodili pacienta. Nejvhodnější je provést odběr hemokultury 3x v hodinových intervalech před zahájením antibiotické terapie a za dodržení přísných zásad aseptiky.

Před odběrem je potřeba kůži – místo vpichu pečlivě vydezinfikovat dezinfekčním přípravkem obsahujícím jód a odebrat 10 ml krve. Zátku na hemokultivační nádobce je třeba také vydezinfikovat.

V současnosti se používají dvoufázové systémy pro kultivaci hemokultur – v nádobce je tekuté médium – bujon a šikmý agar (tuhý). Délka kultivace je 7 dnů a každý den je nádobka kontrolována. Automatizované systémy, např. BACTEC využívají detekci oxidu uhličitého produkovaného přítomnými mikroorganismy. V tomto případě trvá detekce několik hodin. Interpretace výsledků vyšetření je vždy založena na přítomnosti izolovaných patogenů. Problematická bývá interpretace viridujících streptokoků a koaguláza negativních stafylokoků. Příslušný patogen včetně správného antibiogramu musí být přítomen ve všech třech nádobkách, abychom vyloučili kontaminaci vzorku.

Infekce oka

Oční infekce zahrnují v sobě postižení spojivek, víček, infekce rohovky, bulbu a očnice. Přítomnost slz, účinek častého mrkání a neporušený epitel spojivek jsou dostatečnou ochranou proti mikroorganismům. Do neporušeného spojivkového vaku a rohovky dovedou proniknout pouze některé mikroorganismy – např. *Corynebacterium diphtheriae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae* a *Neisseria meningitidis*. Na infekcích se ostatní bakterie podílejí pouze při porušení celistvosti očních orgánů způsobených traumatem nebo i aplikací a nošením kontaktních čoček. Běžnou fyziologickou flóru oka tvoří koagulázanegativní stafylokoky a difteroidní tyčky.

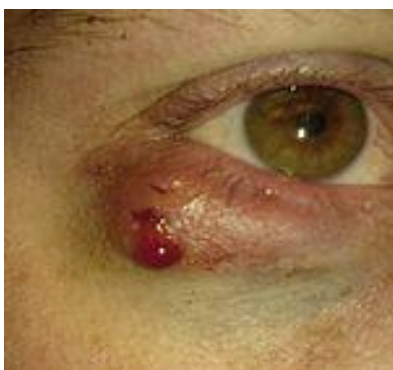
Infekce očního víčka (blepharitis) a záněty spojivek (konjunktivitis).

Infekce spojivek a očních víček probíhají většinou současně. Původcem je *Staphylococcus aureus* a koagulázanegativní stafylokoky. Akutní infekce mazových (Zeissových) žlázek, folikulů řas či Mollovy žlázy způsobená mikroorganismem *Staphylococcus aureus* se nazývá – hordeolum (ječné zrno).



Obrázek 37 Ječné zrno (*hordeolum*)

Zdroj: <http://www.lekari-online.cz/ocni-lekarstvi/novinky/zanicena-bulka-na-vicku>



Obrázek 38 Vlčí zrno (chalazion)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Zánět Meibomovy žlázy je chalazion. Zánět může progredovat do vzniku abscesu nebo flegmóny víčka, nebo přechází do chronické formy. Infekce způsobené *Moraxellou lacunata* a dalšími typy moraxel jsou lokalizované v očním koutku. Virová etiologie infekcí je zastoupená zejména herpetickými viry, adenoviry a enteroviry (o těchto infekcích bude podrobnější zmínka v kapitole o virových infekcích).

Na akutních zánětech spojivek se podílejí zejména *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, u dětí také *Haemophilus influenzae b*, enterobakterie a *Neisseria gonorrhoeae* a *Neisseria meningitidis*.

Závažným patogenem očních infekcí je *Chlamydia trachomatis* - způsobuje trachom (sérotypy A až C), konjunktivitidu (sérotypy D až K) – infekce získaná při pohlavním styku. Ostatní chlamydie – *Chlamydia psittaci* a *Chlamydia pneumoniae* se podílejí na infekcích oka výjimečně. Novorozenecká blennorrhoea neonatorum může vzniknout v případě, že se podcení poporodní křečizace (vykapání obou spojivkových vaků Ophthalmo-Septonexem u novorozenců). Výjimkou nejsou ani mykotické a parazitární infekce oka.

Infekce rohovky

Nejčastějšími původci jsou *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* a *Neisseria gonorrhoeae*. Dále bakteriální rohovkové vředy způsobují *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Corynebacterium diphtheriae*, moraxely. U detekovaného mikroorganismu je nutné stanovit citlivost k antibiotikům, v těchto případech se osvědčilo stanovení citlivosti i k lokálním antibiotikům.

Virové keratitidy způsobuje HSV1- herpes simplex virus 1. Častými agens mykotických infekcí jsou kvasinky, parazitární keratitidy způsobují zejména améby.

Infekce očnice, skléry, episkléry a slzného aparátu

Projevem systémového onemocnění (lupus erythematodes nebo revmatoidní artritida) může být skleritida a na takto narušenou tkáň nasedá bakteriální agens a rozvíjí se infekce. Původci jsou opět *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae b*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*. Chronické infekce vyvolávají mykobakterie, nokardie, aktinomyceety a některé druhy plísní. Parazitárním původcem je *Trichinella spiralis*. Zánět slzné žlázy bývá nejčastěji způsobený bakterií *Staphylococcus aureus*, ojedinele *Neisseria gonorrhoeae*, virem parotitidy nebo EB – virem. Infekci slzovodu způsobují opět *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae b*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Proteus mirabilis*.

Nitrooční infekce

Nejčastějšími původci nitroočních infekcí jsou stafylokoky, které se dělí podle schopnosti koagulovat plazmu pomocí plazmakoagulázového testu na **koaguláza pozitivní** (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*) a **koaguláza negativní** (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*). Endophthalmitidy způsobují koagulázanegativní stafylokoky, dále *Staphylococcus aureus*, z anaerobů *Propionibacterium acnes*, viridující streptokoky a enterokoky. Na virových infekcích se obvykle podílejí herpetické viry – HSV, VZV, CMV. Mykotické infekce způsobuje nejčastěji *Candida* a *Aspergillus* a parazitární infekce – *Onchocercus*, *Toxocara* a *Toxoplasma gondii*.

Infekce ran, kostí a měkkých tkání

Povrchová poranění jsou velmi častým místem rozvoje infekcí. Tato místa jsou infikována vesměs *Staphylococcus aureus* a méně často beta-hemolytickými streptokoky – *Streptococcus pyogenes*, streptokoky skupiny G, F, C a jiné. Poranění způsobená těžkými dopravními nehodami a válečná poranění se infikují anaeroby – *Clostridium perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*, *Clostridium histolyticum* a *Clostridium tetani*. Operační rány jsou infikovány hlavně *Staphylococcus aureus*, koagulázanegativními stafylokoky – *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* a *Proteus sp.* Popáleniny se infikují *Pseudomonas aeruginosa*, enterokoky, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*. Poraněním po pokousání se rozvíjí řada infekcí, na jejichž etiologii se podílí hlavně aerobní a anaerobní flóra ústní dutiny.

Osteomyelitidy

Akutní osteomyelitidy způsobuje nejvíce *Staphylococcus aureus*, příp. *Streptococcus pyogenes*, u dětí *Haemophilus influenzae b*, *Salmonella Enteritidis*. Chronické osteomyelitidy se manifestují jako píštěle, z kterých odtéká sekret. Hemokultury v těchto případech nejsou pozitivní. Vhodná antibiotická terapie není dostačující, chirurgické odstranění ložiska je nezbytné.

Artritidy a myositidy

Artritidy akutní – hnisavé u dospělých jsou vyvolány především bakterií *Staphylococcus aureus*, u novorozenců je to *Streptococcus agalactiae* a gramnegativní bakterie. Na etiologii tohoto onemocnění u malých dětí se podílí *Haemophilus influenzae b*, enterobakterie i salmonely, u starších dětí to jsou stafylokoky, streptokoky a meningokoky. U dospělých může být původcem *Yersinia enterocolitica*. Kloubní náhrady často osídlují hlavně mikroorganismy běžné fyziologické flóry.

Myositidy jako důsledek poranění – pohmoždění jsou nejčastěji způsobené *Clostridium perfringens*. Obvykle se jedná o gangrenózní polymikrobiální onemocnění, kromě včasné a správné antibiotické terapie je nutné podat u infekce způsobené *Clostridium perfringens* profylakticky antigangrenózní sérum a provést chirurgický zákrok. Rozsah chirurgického zákroku je odlišný u subfasciální gangrenózní myonekrózy a epifasciální flegmóny. Hyperbarická komora je život zachraňující u anaerobních procesů v poraněné tkáni.

Infekce kůže

Morfologii kožních lézí rozdělujeme z didaktických důvodů na primární kožní onemocnění, sekundární kožní onemocnění a kožní projevy systémových onemocnění. Podle etiologie infekčních agens rozdělujeme infekce kůže na bakteriální, virové, mykotické a parazitární.

Přehled základních projevů na kůži

Makuly (skvrny) a papuly (pupínky) vytvářejí makulopapulózní exantém u řady kožních infekcí – spalničky, zarděnky nebo spála. Roseola – drobné skvrny, např. u břišního tyfu.

Erytém (zarudnutí) typický kožní projev pro lymeskou boreliózu (*Erythema chronicum migrans*), u streptokokové a hemofilové celulitis.

Tubery (hrboly) jsou charakteristickým projevem u granulomatózního zánětu – virové bradavice (*Verrucae*) nebo tuberkulózy kůže.

Vesikuly (puchýřky) jsou naplněné čirou nebo nažloutlou tekutinou a jsou typické pro herpes simplex (HSV1), varicellu, herpes zoster (VZV), později se mění v krusty.

Petechie - hemoragické skvrny na kůži charakteristické pro meningokokovou infekci, ale i u infekčních endokarditid.

Ulcus – vřed je ohraničený defekt kůže či sliznice až rozpad tkáně. Charakteristický je např. *Ulcus durum* u syfilis nebo tularémie.

K sekundárním infekcím patří hlavně hnisavé procesy a nekrózy u běžných poranění – operační rány, rány vzniklé pokousáním. U pacientů s chronickou žilní insuficiencí dochází ke vzniku *Ulcus cruris* a dekubitů (proleženiny) u diabetiků. Tato místa se snadno infikují zejména mikroorganismy typu *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativními stafylokoky, streptokoky, enterokoky, pseudomonádami a anaerobními bakteriemi.

Infekce kůže bakteriální

Impetigo – smíšená infekce stafylokoková a streptokoková vyskytující se zvláště u malých dětí v předškolních zařízeních (*Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*)

Foliculitis – zánět vlasového folikulu – působí *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Acne vulgaris – zánětlivé onemocnění mazových žlázek – *Propionibacterium acnes* s jinými bakteriemi.

Furunculosis – stafylokoková infekce folikulu – drobný kožní absces.

Hordeolum – hnisavý zánět žlázy na okraji očního víčka (tzv. ječné zrnko).

Erysipelas (růže) – akutní zánět kůže způsobený bakterií *Streptococcus pyogenes* - beta-hemolytický streptokok skupiny A.



Obrázek 39 Erysipel (růže)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Erysipeloid (červenka) je vyvolaná bakterií *Erysipelothrix rhusopathiae*. Postižení jsou lidé na ruku, kteří manipulují s vepřovým masem nebo s rybami.



Obrázek 40 Erysipeloid (červenka)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Intertrigo – opruzenina vzniká třením vlhké pokožky nejvíce v tříslech a v kožních záhybech u kojenců a obézních osob. Snadno se tato místa infikují a původci jsou *Staphylococcus aureus*, enterobakterie a *Candida albicans*.

Virová onemocnění kůže se především manifestují jako makulopapulózní exantém (spalničky, zarděnky), exanthema subitum neboli roseola infantum (šestá dětská nemoc) způsobená lidským herpesvirem 6 (HHV 6), megalerythema infectiosum (parvovirus 19) a jiné. Vesikulární exantém je charakteristický pro herpetické infekce na kůži.



Obrázek 41 *Exantema subitum* (šestá dětská nemoc)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Mykotické infekce kůže jsou často způsobovány kvasinkami, ale i dermatofyty – především keratinizované části kůže.

Parazitární infekce kůže u nás jsou méně časté – např. svrab (scabies) způsobený zákožkou svrabovou *Sarcoptes scabiei*, ale častější jsou parazitární infekce kůže v tropech. Podrobněji budou virové, mykotické a parazitární infekce kůže popsány v následujících kapitolách o virových, mykotických a parazitárních mikroorganizmech.

8.7 Infekce matky, plodu a novorozence

Onemocnění během těhotenství probíhají komplikovanější formou a často může docházet k reaktivacím. Mnohé z infekčních onemocnění se mohou přenést na plod. Během porodu i během laktace matka i novorozenec jsou ohroženi infekcemi, většinou to bývá etiologicky jiné infekční agens než v průběhu těhotenství. Organismus matky i plodu se chová odlišně kvůli změně v reakci imunitního systému – tzv. **imunologický paradox**.

Infekční onemocnění matky

Během gravidity mnohá infekční onemocnění mohou mít závažnější průběh. Jedná se především o virovou **hepatitidu E**, **chřipku** a **infekce uropoetického systému**. U infekcí uropoetického systému jde především o anatomické a hormonální důvody – dochází ke zpomalenému odtoku moči z ledvinových pánviček a močového měchýře. Na poševní sliznici se velmi často pomnoží **kvasinky**, které způsobují kandidovou vulvovaginitidu. K závažným infekcím v graviditě patří **listerióza** způsobená bakterií – *Listeria monocytogenes*. Ve většině případů probíhá inaparentně nebo pouze pod obrazem onemocnění chřipkou. Pro plod to však znamená vážné ohrožení a přítomnost bakteriemie je rizikem pro matku i plod. Dalším onemocněním je **poliomyelitida**, která před zavedením vakcinace probíhala u těhotných v paralytické formě s těžkými obrnami. Zhoršený průběh je známý také u **malárie** a **kokcidiomykózy**.

V souvislosti s infekcemi je potřeba myslet u gravidních na reaktivaci některých latentních infekcí. Většina reaktivací je tzv. klinicky němá, neprojeví se klinickými známkami infekce, pouze sérologickým nálezem. Tento fakt je velkým nebezpečím pro plod. K těmto infekcím patří – infekce **cytomegalovirem**, kdy se zvyšuje vylučování z cervixu a virus se může objevit i v mateřském mléce. **Herpes simplex virus** se může v průběhu gravidity množit v buňkách cervixu. Močí se ve zvýšené míře vylučují **polyomaviry (onkogenní viry)** a i **EB-virus** se ve zvýšené míře může vylučovat z orofaryngu a sérologicky nacházíme vyšší titry protilátek. Velká plocha narušené sliznice v děložní dutině se nachází u žen vždy po porodu nebo potratu a může být velkým rizikem pro vznik a šíření infekce. **Sepsis puerperalis** – horečka omladnic starých porodníků, původcem je *Streptococcus pyogenes* vyskytující se v nosu, hrdle nebo na ruce ošetřujícího personálu by se v současnosti již neměla objevovat. Současní původci infekcí poporodních stavů pocházejí především ze střevní nebo vaginální flóry matky, např. *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*. Velké nebezpečí představují pro matku **anaerobní bakterie**, které jsou častými původci u kriminálních potratů, např. *Bacteroides sp.*, *Actinomyces spp.*, *Clostridium perfringens*. Při předčasném odtoku plodové vody, při retenci části placenty nebo při instrumentálních zákrocích hrozí také puerperální sepse. Objevení se horečky nebo očístků se zápachem v šestinedělí je indikací k odběru hemokultury a stěrů z děložního hrdla pro běžnou i anaerobní kultivaci.

U novorozenců tzv. neimunních matek může dojít k nákaze virem herpes simplex a ta se může přenést na matku. Kolonizace nosní sliznice novorozence kmenem *Staphylococcus aureus* nebo přímo infekce touto bakterií patří k běžnějším nálezům. Při kojení se může infekce šířit mlékovodou nebo vzniklými ragádami do prsu, a to vyvolává **mastitidu** nebo **mamární absces**. Mikrobiologická laboratoř je povinna sledovat, zda stafylokokové kmeny izolované na jednom oddělení nemají shodné vlastnosti a jestli případně nevzniká **ohnisko nozokomiální infekce**.

Infekční onemocnění plodu a novorozenců

Všechny tyto infekce jsou následkem matčiny nákazy, která se přenesla na plod. Kongenitální (vrozené) infekce jsou označovány jako infekce plodu. Infekce získané těsně před porodem jsou prenatální. Neonatální infekce jsou způsobené infekčním agens z okolí novorozence. Novorozenci se setkávají poprvé s cizím prostředím v porodních cestách. Perinatální infekce jsou infekce získané během porodu, infekce postnatální jsou získané do 4 týdnů života novorozence.

1. Kongenitální – vrozené infekce

Mikroorganismy obecně mohou plod poškodit a způsobit jeho potrat nebo může dojít k porodu mrtvého dítěte. Proti běžným mikroorganismům je plod dostatečně chráněn plodovými obaly. Některé z infekčních agens ovšem pronikají přes tuto bariéru a plod infikují. V případě, že je infekce mírná, plod přežívá a narodí se dítě infikované kongenitálně - zjevně nemocné nebo s vrozenými vadami. Dítě pro svůj nezralý imunitní systém nedokáže infekci zlikvidovat a zůstává infikováno ještě dlouho po narození. Období gravidity a období, kdy došlo k infekci matky, je velmi důležitým faktorem, který určuje výsledek infekce plodu. **První trimestr** je pro plod obzvláště rizikový, probíhá vývoj orgánů – **organogeneze**. Nejnebezpečnější je **infekce virem zarděnek**, který má na začátku gravidity **teratogenní vliv na plod**. Obvykle bývají postiženy ty orgány, které se vyvíjejí během prvních třech měsíců gravidity (oko, ucho a srdce). V prvním měsíci těhotenství je riziko poškození plodu 50%, ve druhém měsíci 25%, ve třetím měsíci 10%. Nízké riziko poškození plodu existuje i v dalších měsících gravidity. Kromě anamnézy a klinického nálezu je nutný k diagnóze laboratorní průkaz. Nejčastěji se jedná o průkaz protilátek ve třídě IgM a IgG a vyšetření avidity (síla vazby mezi protilátkou a antigenem v komplexu antigen-protilátka) IgG protilátek. V případě, že se jedná o čerstvou infekci, tzn. proběhlou v posledních 4-6 týdnech, tvoří se vysokoaviditní protilátky v malém procentu – avidita je nízká. Následkem infekce virem zarděnek pak může být jednak potrat na začátku těhotenství, jednak může dojít k vzniku **vad oka** (katarakta, mikroftalmie), **vad vnitřního ucha** (hluchota, poruchy Cortiho orgánu) a k vzniku **vad srdce** (ductus arteriosus patens). Kromě těchto onemocnění může zahrnovat syndrom kongenitální rubeoly postižení mozku (mikrocefalie, mentální retardace) a jater se slezinou (hepatosplenomegalie, trombocytopenická purpura, anemie), jakož i celkové příznaky (např. nízká porodní váha, neprospívání novorozence, zvýšená novorozenecká úmrtnost). Nemusí dojít k infekci každého plodu. Při matčině infekci ve 2. měsíci je postižena asi čtvrtina novorozenců, virus se vylučuje močí a z hrdla ještě několik měsíců po narození a může sloužit jako zdroj nákazy pro své okolí. Kongenitální infekce **cytomegalovirem** se rovněž projevuje **psychomotorickou retardací, postižením sluchu, poruchami zraku, hepatosplenomegalii, trombocytopenickou purpurou a anémií**. V těhotenství po primární infekci matky bývá nakaženo asi 40 % plodů. Desetina novorozenců se rodí se známkami kongenitální cytomegalie, u dalších se projeví mentální retardace, k poruchám sluchu obvykle dochází až později v dětství. Bezpříznaková infekce parazitem – prvokem *Toxoplasma gondii* u matky v těhotenství může vést k potratu, porodu mrtvého plodu nebo

se u dítěte manifestuje jako **kongenitální toxoplazmóza**. Typickými příznaky jsou **mikrocefalie s postižením CNS, chorioretinitis, hepatosplenomegalie**, později se rozvíjí **hydrocephalus**. Dítě se velmi často rodí zdánlivě zdravé a příznaky se dostaví až za několik let. Další závažné onemocnění představuje pro plod i novorozence **kongenitální syfilis**. V našich zemích je příčinou selhání zdravotnického personálu. Pokud se podaří u těhotné diagnostikovat a zahájit terapii do 4. měsíce gravidity, k infekci plodu nedojde. Původce syfilis *Treponema pallidum* není schopna překonat placentu do cca 26. týdne gravidity. Ke klasickým příznakům vrozené syfilis patří: **rhinitida, změny na kůži a sliznicích – tzv. lakové patičky, hepatosplenomegalie, lymfadenopatie, postižení kostí, zubů, chrupavek** (typický je tzv. **sedlovitý nos**). V řadě případů jedinou známkou vrozené lues může být přítomný **pozitivní sérologický nález**.

Vrozená listerióza je další z onemocnění, které představuje nebezpečí pro plod. Je to poměrně vzácné onemocnění, ale infekce matky patogenem *Listeria monocytogenes* vždy postihne plod. Pokud ho neusmrtí, tak dojde k předčasnému porodu. U novorozence se rozvine listeriová sepsa nebo meningitida. Mohou se také vytvářet abscedující granulomy. K nákaze novorozence může dojít během porodu, příp. i krátce po něm. Klinické příznaky jsou jako u pneumonie nebo meningitidy.

V prvním trimestru gravidity infekce **virem varicella – zoster (VZV)** může výjimečně způsobit vznik vrozených vad. Varicella u matky těsně před porodem je nejvíce nebezpečná pro dítě. V této době dítě není ještě chráněné mateřskými protilátkami a hrozí mu generalizovaná zničující infekce. Nebezpečné je však onemocnění matky **těsně před porodem**, kdy se onemocnění u dítěte může projevit až po porodu jako **novorozenecká varicella**. Při onemocnění matky v době 25 až 5 dní před porodem je průběh novorozenecké varicelly obvykle lehký a není život ohrožující. Při onemocnění matky v době 5 dní před porodem až 2 dny po porodu, je onemocnění u dítěte vážné a má až 5% smrtelnost (důvodem je skutečnost, že matka nestihne předat dítěti protilátky proti onemocnění).

Velkým rizikem je také infekce matky **parvovirem B19** nebo **virem herpes simplex (HSV)**. Zcela výjimečná je **kongenitální tuberkulóza**, ale případy kongenitální lepry v pozdějších stádiích těhotenství jsou ve světě popsány. U dětí narozených gravidním ženám po infekcích viry chřipky, dětské obrny a příušnic teratogenní vliv nebyl pozorován.

Počet HIV pozitivních nadále stoupá, proto lze předpokládat i stoupající počet infikovaných novorozenců.

Laboratorní diagnostika a průkaz vrozených infekcí je velmi obtížná. Přímý průkaz lze uplatnit u potracených plodů nebo mrtvě narozených novorozenců, pokud se jedná o infekci způsobenou cytomegalovirem, virem zarděnek, bakterií *Listeria monocytogenes* nebo např. parazitem *Toxoplasma gondii*. Přímý průkaz etiologického agens u živě narozených dětí uplatňujeme v případě kongenitální cytomegalie a zarděnek. Virus prokazujeme kultivací nebo imunofluorescencí v moči, v likvoru a v leukocytech. Výjimečně využíváme k mikroskopickému průkazu zástin nebo přímou imunofluorescenci, např. u kongenitální syfilis. **Při podezření na vrozenou infekci u většiny případů se snažíme o průkaz sérologický**. Důvodem jsou **placentou procházející mateřské, resp. aktivně transportované IgG protilátky**. Hladina IgG protilátek bude u novorozence stejná nebo vyšší než u jeho matky – vše se stanovuje z **pupečnickové krve**. IgM protilátky pro svou velkou molekulární hmotnost neprojdou a nejsou aktivně transportovány přes placentu, proto každá detekovaná hladina IgM protilátek u novorozence se považuje za jeho vlastní IgM protilátky a znamená, že infekce byla získána před narozením. V průběhu **prvních měsíců života** vyšetřujeme pro potvrzení diagnózy **paralelně krev matky i dítěte**. Z krve dítěte mateřské protilátky postupně vymizí (poločas je cca 20 dnů), vlastní IgG protilátky zůstávají. Nepřímý – sérologický průkaz je velmi důležitý zvláště u toxoplazmózy, kongenitální syfilis,

zarděnek a infekce cytomegalovirem. Možnosti terapie jsou omezené a zahájit ji můžeme pouze u některých vrozených infekcí. U **kongenitální syfilis** je lékem volby jednoznačně **penicilin**. V léčbě **kongenitální toxoplasmózy** bychom využili **Rovamycin**, u **listerií** **Ampicilin**. Kongenitální infekce způsobené virem prozatím léčíme obtížně, např. vrozenou rubeolu nebo cytomegalovirovou infekci.

Proočkování populace proti zarděnkám hodně přispívá k prevenci vrozených nákaz.

Neonatální infekce

Novorozenec se obvykle infikuje při průchodu infikovanými porodními cestami perinatálně nebo během porodu. Méně často dojde k nákaze krví matky. Riziko infekce novorozence se zvyšuje předčasným odtokem plodové vody. K infekcím postnatálním dochází v hygienicky nevyhovujícím prostředí. U kongenitálních infekcí převažují viry, u postnatálních jsou významnější bakterie.

Blenorrhoea neonatorum je konjunktivitida vyvolaná některým ze sérotypů D až K *Chlamydia trachomatis* anebo může být vzácně způsobena *Neisserii gonorrhoeae*. Vzhledem k úspěšné profylaxi – kredeizaci u všech novorozenců Ophthalmo–Septonexem, event. Ophthalmo-Framykoinem je tato infekce velmi vzácná. Infekce *Chlamydie trachomatis* je nejčastější perinatální infekce a původce pochází z cervixu dělohy matky. Ve většině případů je to benigní onemocnění dobře reagující na lokální terapii. Velmi vzácně infekce pronikne do respiračního traktu a vyvolá pneumonii. Cervikální infekce matky způsobená papilomaviry se u novorozence manifestuje zřídka (vytvoření laryngeálních papilomů).

Soor (moučnivka) je kandidové onemocnění (*Candida albicans*) dutiny ústní u nedonošených novorozenců.

Během porodu se poměrně často přenáší na novorozence virus hepatitidy B (VHB). Infekce je většinou bezpříznaková a infikuje se valná většina dětí narozených matkám - nosičkám VHB.

K dalším virům, které se přenášejí **perinatálně**, patří HSV – herpes simplex virus, zejména typ 2. HSV 2 způsobuje těžký **generalizovaný herpes neonatorum**. K závažným patří rovněž perinatálně získaná infekce VZV – virus varicella zoster, enteroviry a HIV.

Infekce vyvolané beta-hemolytickými streptokoky skupiny B (*Streptococcus agalactiae*) jsou velmi vážné pro novorozence. Pokud chybí ochranné protilátky matce i novorozenci, existuje vysoké riziko, že kolonizace novorozence přejde při porodu do infekce. Tato infekce má dvě formy, časnou a pozdní. Časná forma infekce vzniká v průběhu 1 až 3 dnů po narození po komplikovaném nebo předčasném porodu. Klinicky zaznamenáváme obraz sepse s příznaky pneumonie nebo meningitidy. Vysoká je smrtnost a následky jsou těžké, případné přežití složité. Na poševní sliznici matky nacházíme streptokoky skupiny B, mnohdy ve velkém množství. Nastávající maminka si není ničeho vědoma, protože kolonizace je většinou bezpříznaková. Za týden i později po porodu pak vzniká pozdní forma infekce a probíhá jako meningitida. K dalším bakteriím, které vyvolávají **novorozenecké meningitidy** a **sepse** patří *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Haemophilus influenzae b*, *Mycoplasma hominis*.

Záhy po narození je novorozenec především v nemocničním prostředí vystaven také patogenním mikrobům z prostředí. **Riziko pro novorozence představuje zejména ošetřující zdravotnický personál**. Nebezpečí infekce bakterií *Streptococcus agalactiae* a gramnegativními tyčinkami trvá i po narození. *Staphylococcus aureus* je původcem hnisavé konjunktivitidy, zánětu pupku – omphalitis, pyodermie, které vedou až k sepsi novorozenců. Výjimečně může *Staphylococcus aureus* – produkující epidermolytický enzym (exfoliatin) způsobit **syndrom opařené kůže**.



Obrázek 42 Syndrom opařené kůže

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

V případě, že je matka novorozence neimunní, v prvních týdnech po narození je velmi nebezpečný HSV. Všechny ostatní infekce probíhají vždy u novorozence hůře než u dospělých, např. salmonelózy – tendence vzniku sepsí a meningitid. Bakterie *Pseudomonas aeruginosa* může vyvolávat těžké průjmy. Vstupní branou infekce je i pupeční pahýl novorozence a může se třeba infikovat *Clostridium tetani*, což následně vede ke vzniku **tetanus neonatorum**.

Mateřské mléko novorozence a kojence chrání před infekcemi, zejména gastrointestinálního traktu. Může obsahovat některé patogenní mikroorganismy, např. virus zarděnek, CMV, virus lidské T-buněčné leukemie (HTLV-1) i HIV. Titry protilátek kromě HTLV-1 jsou nízké a mateřské mléko není závažným zdrojem infekce. Kojení se HIV pozitivním matkám nedoporučuje.

Laboratorní diagnostika i u neonatálních infekcí musí být rychlá a samozřejmě správná. U meningitid musí být klasická kultivační technika doplněna rychlými diagnostickými postupy. Význam má rychlá mikroskopická diagnostika patogena ze sedimentu likvoru - preparát se obarví Gramem a v séru, likvoru nebo moči prokazujeme přítomný antigen latexovou aglutinací. Musíme si uvědomit, že diagnostické soupravy zachytí i antigeny např. *Escherichia coli* nebo *Streptococcus agalactiae*, které reagují zkříženě s protilátkami proti buněčnému pouzdru *Neisseria meningitidis* skupiny B. Hladina bakteriémie u novorozeneckých sepsí bývá natolik vysoká, že etiologické agens je možné zachytit přímo v odebraném vzorku na hemokulturu. Pokud se jedná o uzavřené nádoby s hemokulturou a médiem určené přímo ke kultivaci do systému, např. Bactec, tak to možné není. Automat však během několika hodin pozitivní nález zachytí. Pro kultivaci *Neisseria gonorrhoeae* nebo *Chlamydia trachomatis* je nutno použít speciálních odběrových souprav a jiných způsobů kultivace či detekce mikrobiální DNA.

Terapie infekcí novorozenců se řídí antibiogramem a závisí na etiologickém agens, které danou infekci způsobuje.

9 Virologie

Virologie je součástí lékařské mikrobiologie a zabývá se studiem virů, jejich morfologií, vlastnostmi, jejich vztahem k lidskému organismu (konkrétně imunitnímu systému a k hostitelské buňce) a k infekcím, které vyvolávají. Viry jsou odlišné od ostatních

mikroorganismů, a proto je virologie samostatnou biologickou vědou. Virologie zahrnuje obecnou a speciální virologii.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

9.1 Obecná virologie

Celý tento podobor navazuje na předchozí poznatky objevené a objasněné především Robertem Kochem a Luisem Pasteurem. Nemůžeme opomenout zmínku o cca 30 let starém objevu retroviru HIV, viru lidského imunodeficitu (původce AIDS – syndromu získaného selhání imunity). Roku 1983 se na tomto objevu podíleli Francouz Luc de Montagnier a Američan Robert C. Gallo. Ve vědeckém týmu R. C. Gallo pracoval také Slovák Mikuláš Popovič.

Viry jsou velmi malé a pouhým okem neviditelné. Definovat je není vůbec jednoduché, protože představují velmi různorodou skupinu infekčních agens. Charakteristické pro ně je, že se nedělí, nerostou, nemetabolizují, ale s živými organizmy je spojuje jediná zásadní vlastnost, a to, že mají genetický kód pro vlastní replikaci. Můžeme s jistotou říct, že od ostatních organismů se liší těmito znaky:

1. Viry nejsou organizovány jako buňky, nýbrž jako částice (můžeme je považovat za organizmy podbuněčné nebo nebuněčné).
2. Zralé virové částice obsahují jen jediný typ nukleové kyseliny – buď DNA, nebo RNA.
3. Viry se množí syntézou svých složek, ne dělením.
4. V dané syntéze jsou viry závislé na ribozomech hostitelské buňky.

V medicíně považujeme viry za mikroorganismy, které nejsou viditelné běžným mikroskopem, nerostou na kultivačních půdách a lze je v laboratorních podmínkách pěstovat pouze na živých buněčných kulturách. Velmi výraznou vlastností virů je, že nejsou citlivé na běžná antibiotika, ale na antivirotika. Z toho vyplývá, že virovou infekci – např. běžnou virózu nelze léčit antibiotiky.

Morfologie virových částic

Virovou částici označujeme termínem – virion. Vnitřní část virionu představuje dřeň – nukleotid. V nukleotidu je obsažena nukleová kyselina, která je obklopena bílkovinnou schránkou – kapsidou. Tomuto komplexu říkáme nukleokapsida. Řada virů je jenom nukleokapsidami, např. picornaviry, adenoviry, papillomaviry, u jiných virů je nukleokapsida uložena v další struktuře, ve virovém obalu, např. herpesviry, orthomyxoviry, paramyxoviry. Virová kapsida se skládá z opakujících se stejných bílkovinných podjednotek neboli protomer. Podle uspořádání protomer – jejich symetrie, rozeznáváme kapsidy s kubickou, spirální, binární nebo komplexní symetrií. Tvar virů je většinou kulovitý, zejména u malých virů, obalené viry mají zpravidla tvar kulovitý nebo nepravidelný. Rhabdoviry se třeba podobají projektilům, poxviry vánočkám nebo briketám, filoviry jsou vláknité. Viry pozorujeme v elektronovém mikroskopu, nejčastěji se používá tzv. technika negativního barvení. K suspenzi virionů přidáváme látku nepropustnou pro elektrony, např. kyselinu wolframovou, která obklopí viriony a pronikne do štěrbin mezi virové struktury - okolí virionu a tyto struktury jsou pak viditelné jako tmavé. Nukleová kyselina obsažená ve virech je nositelem genetické

informace jednak pro tvorbu sebe samých a ostatních virových makromolekul, dále je nositelem infekčnosti a schopnosti vyjádřit tuto informaci v hostitelské buňce. Součástí struktury virů jsou proteiny a lipidy. Makroorganizmus vnímá virové antigeny jako cizorodé. Virové antigeny jsou tvořeny proteiny, nukleoproteiny a glykoproteiny. Inaktivace virů znamená poškození virionu, který je zbaven schopnosti infikovat hostitelskou buňku. Virové antigeny dělíme na tzv. strukturální a nestrukturální. Povrchové antigeny patří do skupiny nestrukturálních antigenů. Protilátky proti povrchovým antigenům, které tvoří makroorganizmus, jsou protekční a přetrvávají v lidském těle řadu let a mnohdy i po celý život. Chrání organismus před opakovanou infekcí stejným typem viru. Inaktivace viru znamená poškození virionu, který je zbaven schopnosti infikovat buňku. Tuto inaktivaci lze provést různými způsoby pomocí fyzikálních i chemických prostředků. Velice spolehlivou metodou inaktivace virů je autoklavování, kdy zcela jistě běžné viry zlikvidujeme. Třídění a názvosloví virů medicínsky významných se řídí z praktických důvodů zatím základním rozlišujícím znakem, a tím je povaha hostitele. Mezinárodní komise pro taxonomii virů zavedla univerzální klasifikační systém, podle kterého se všechny viry člení do více než 70 taxonů, na základě daných znaků.

Podle klinicko-epidemiologického hlediska je rozdělené virů v medicíně dané na základě způsobu přenosu a vyvolaných syndromů. Následující rozdělení virů je dle projevů, které tyto viry vyvolávají, do několika skupin:

1. Respirační viry – viry chřipky A, B a C, adenoviry, respirační syncytiální virus, viry parainfluenzy, rhinoviry, koronaviry, výjimečně virus herpes simplex – HSV, enteroviry

2. Neurotropní viry – virus klíšťové encefalitidy, enteroviry (virus poliomyelitidy, Coxsackie viry, ECHO viry), virus parotitidy, virus herpes simplex – HSV 1 a 2, virus varicella - zoster VZV, cytomegalovirus – CMV, virus vztekliny, arboviry – virus Ťahyňa, virus lymfocytární choriomeningitidy

3. Exantematické viry – podle projevů na kůži:

Skvrnitý exantém – virus spalniček, virus zarděnek, Coxsackie viry skupiny A, ECHO viry, roseolovirus, erythrovirus, EB-virus

Puchýřky – vesiculy – virus herpes simplex, virus varicelly – zoster, Coxsackie virus A16, aftovirus

Petechie – cytomegalovirus, viry hemoragických horeček, hantaviry

Jiné kožní projevy – virus bradavic, virus molluscum contagiosum

4. Viry hepatitid – virus hepatitidy A (rod Hepatovirus), virus hepatitidy B (rod Orthohepadnavirus), virus hepatitidy C (rod Hepacivirus), virus hepatitidy D (rod Deltavirus), virus hepatitidy E. Viroví průvodci průjmů – rotaviry, viry Norwalk a Sapporo, astroviry, střevní adenoviry aj.

5. Arboviry – virus klíšťové encefalitidy, virus západonilské horečky, virus Ťahyňa, virus Tribeč, Virus Sindbis, virus Eyach, další izolované arboviry

Při napadení hostitelské buňky makroorganizmu virem pozorujeme určité změny, které souvisejí s virovou infekcí. Cytocidní infekce je charakterizovaná především tvorbou interferonu na infikované buňce, poté následuje zástava syntézy většiny buněčných makromolekul, posléze vzrůstá poškození buněčných membrán a nakonec dochází k poruchám funkce buněk. Dalším typem je necytocidní infekce. Je to stav, kdy se při rovnovážné perzistentní infekci virová nukleová kyselina množí sice nezávisle, ale dostatečně a pomalu a moc při tom nenarušuje metabolismus buňky. Morfologické změny infikovaných buněk se ve tkáňových kulturách označují jako cytopatický efekt viru (CPE). Jiným typem je velmi závažná virová karcinogeneze. Studium virové karcinogeneze přineslo

pochopení původu virových onkogenů. Onkogeny odpovídající za nádorovou přeměnu buňky jsou buněčného původu a jejich přítomnost byla zaznamenána v transformujících se retrovirech. Stručně shrnuto – vznik nádoru je konečnou fází sledu mnohočetných genetických změn.

Přehled lidských nádorových virů

Hepadnaviridae - hepatocelulární karcinom

Herpesviridae (EBV, HHV 8) - Burkittův lymfom, nasofaryngeální karcinom, morbus Hodgkin, B-lymfomy, Kaposiho sarkom, morbus Castleman

Papillomaviridae – karcinom cervixu a kůže

Flaviviridae – hepatocelulární karcinom

Retroviridae – T-buněčná leukémie dospělých

Polyomaviridae – nádory mozku, osteosarkomy, mesotheliomy

Poxviridae - molluscum contagiosum

Formy virových nákaz jsou podobné jako u ostatních infekčních agens, které vyvolávají infekce. Rozeznáváme infekce lokální (rýma a bradavice - verucae), systémové (chřipka, rotavirový průjem, herpetická stomatitida) a generalizované (spalničky, příušnice, zarděnky, neštovice, klíšťová encefalitida). Patogenezi virových nákaz si stručně přiblížíme shrnutím do několika fází. Prvním krokem je šíření viru vstupními bránami (např. dýchací systém), dále pokračuje rozsev virů v organizmu z buňky do buňky, krví, likvorem, lymfou a poslední fází je vylučování viru z hostitele. Obvyklé šíření viru lidským organizmem při akutní virové infekci je následovné: množení viru ve vstupní bráně, poté nastupuje rozsev viru lymfatickými cestami a následně pak množení virů v regionálních lymfatických uzlinách. Posléze dochází ke vzniku primární virémie a množení v ústředních ložiscích. Nastupuje sekundární virémie, kterou obvykle končí období bez příznaků neboli inkubační doba. Posléze dochází k množení virů v cílovém orgánu event. k terminální virémii, příp. exitu. K vylučování viru z hostitele dochází z postižených sliznic především respiračním a gastrointestinálním traktem, dále z kožních lézí, močí a přímo z krve. Lidský organizmus se brání proti virové infekci několika způsoby. Patří sem nespecifická protivirová rezistence podložená nevnímavostí (buňka nemá receptory nebo nedovede virion pohltnout) a nepermissivitou (taková buňka není schopna transkripcí virové RNA). Virové inhibitory se nacházejí v séru, ve tkáňovém moku a v hlenu na sliznicích. Jejich jedinečnou schopností je neutralizace infekčnosti mnoha virů. Dalším mechanismem imunity je produkce interferonu. Interferon byl objeven jako produkt buňky, který interferuje s množением virů. Rozlišujeme interferon alfa – produkovaný leukocyty, interferon beta – produkovaný fibroblasty a interferon gama – produkovaný lymfocyty. Účinnost interferonu je obrovská v ochraně buněk, stačí k tomu jediná molekula interferonu, aby ochránila buňku před virem, ale musí se k ní dostat dříve než virus. Interferon je nejdůležitější faktor omezující šíření virů a podmiňující uzdravení z virové infekce. Stejně tak účinkuje proti všem virům bez ohledu na to, co může být induktorem, dále pak potencuje přirozené zabíječe – buňky NK. Významnou roli sehrává interferon v regulaci imunitní odpovědi a potlačuje i dělení nádorových buněk. Další způsob ochrany představuje zvýšená tělesná teplota, která se zvyšuje přeladěním termoregulačního centra v hypothalamu účinkem interleukinu 1 a dalších endogenních pyrogenů. Zvýšená teplota těla postupně inaktivuje volné viriony v krvi a ve tkáních a brzdí replikaci virových nukleových kyselin. O obraně proti virům zánětem není sporu. Leukocyty a makrofágy se seskupují kolem infikovaných buněk, kyselina mléčná se hromadí v zaníceném ložisku, současně se zvyšuje tenze oxidu uhličitého a pH pak klesá k hodnotám neslučitelným s množением virů. Z poškozených buněk se uvolňuje interleukin 1, a to zvyšuje tělesnou teplotu.

Imunita u virových nákaz

U virových infekcí se uplatňuje především **protilátková imunita**. Protilátky vznikají proti povrchovým virovým antigenům a vazba protilátky vede k neutralizaci infekčnosti viru. Pokud se daná protilátka naváže na povrchový antigen viru, zabrání tím přilnutí virionu k receptoru hostitelské buňky. Vytvořené protilátky proti povrchovým antigenům infikované buňky umožňují imunní lýzu nakažených buněk jednak účinkem komplementového systému a také účinkem zabíječských lymfocytů. Důležitější je však likvidace virem infikovaných buněk pomocí cytotoxických lymfocytů. Situace u viróz, jednoho z nejběžnějších infekčních onemocnění u nás, je následovná. Samotná imunitní reakce se rozbíhá až po pomnožení viru. Markerem akutní fáze infekce jsou protilátky typu IgM (po několika týdnech vymizí), posléze se tvoří protilátky typu IgA (chrání hlavně sliznice – slizniční protilátky přetrvávají i několik let) a pak teprve protilátky typu IgG, které mohou přetrvávat několik měsíců i let a dokonce celoživotně. V laboratorním nálezu jsou přetrvávající protilátky typu IgG charakterizovány jako anamnestické protilátky. Velký význam mají pasivně přenesené mateřské IgG protilátky u novorozence. Chrání ho minimálně první půlrok života před infekcemi, které prodělala matka nebo proti nimž byla očkována.

V obraně před virovými infekcemi má svoje místo i buněčná imunita. Právě virovými infekcemi trpí častěji jedinci s postiženou buněčnou imunitou. Buněčná neboli celulární imunita je zprostředkována imunními lymfocyty a namířena je především proti antigeně změněným buňkám. Schopnost rozpoznávat virové antigeny mají cytotoxické lymfocyty Tc. Nesmíme zapomenout na význam interferonu gama, který jej jedním z lymfokinů produkovaných lymfocyty při jejich aktivaci. Interferon gama je schopen ochránit aktivované lymfocyty před virovou infekcí, dále také poskytuje ochranu makrofágům obvykle předtím, než jsou aktivovány dalšími působilky. Imunitní systém funguje velmi složitě a cíleně a i přesto mají mnohdy viry schopnost těmto obranným mechanismům uniknout.

V prevenci a profylaxi virových infekcí má svoje zásadní místo specifická aktivní imunizace – vakcinace. Účinek aktivní imunizace je dlouhodobý a spolehlivý. Pasivní imunizace – podávání imunoglobulinu má obrovskou výhodu v okamžitém účinku hned po podání, nevýhodou je krátkodobý účinek cca 8–10 týdnů. Odolnost organismu je možné posilovat též cíleně interferonem užívaným zejména v léčbě hepatitidy C, u některých forem hepatitidy B, leukemie z vlasatých buněk a u condylomata accuminata.

9.2 Speciální virologie

Viry rozdělujeme podle typu nukleové kyseliny obsažené v nukleotidu virů na DNA viry a RNA viry.

DNA viry

POXVIRIDAE:

Orthopoxvirus – virus varioly, vakcinie, kravských neštovic, opičích neštovic

Parapoxvirus – virus Orf, paravakcinie

Nezařazené - viry molluscum contagiosum

HERPESVIRIDAE:

Alfa – herpesviridae

Simplexvirus viry herpes simplex – HSV 1 – herpes simplex labialis

HSV 2 – herpes simplex genitalis



viry varicella - zoster VZV

Beta-herpesviridae

Cytomegalovirus CMV

Roseolovirus

Lidský herpesvirus 6 a 7, HHV6 a HHV 7

Gama- herpesviridae

Lymphocryptovirus – virus Epstein–Barrové EBV

Nezařazený – lidský herpesvirus 8 - HHV8

ADENOVIRIDAE:

Mastadenovirus lidské adenoviry T1- T4

PAPOVAVIRIDAE:

Papillomavirus lidské papillomaviry (70 typů)

Polyomavirus viry JC a BK

HEPADNAVIRIDAE:

Orthohepadnavirus virus hepatitidy B HBV

PARVOVIRIDAE:

Parvovirus Virus B 19

RNA viry:

ORTHOMYXOVIRIDAE:

Influenzavirus A virus chřipky A Influenzavirus B virus chřipky B

Influenzavirus C virus chřipky C

PARAMYXOVIRIDAE:

Paramyxovirus viry parainfluenzy, virus průšnic,

Morbillivirus virus spalniček

Pneumovirus respirační syncytiální virus

CORONAVIRIDAE:

Coronavirus lidské koronaviry

PICORNAVIRIDAE:

Enterovirus poliovirus T1-T3, vir Coxsackie A (23 typů), Coxsackie B (6 typů), Echoviry (31 typů)

Rhinovirus - rhinoviry (113 typů)

Aphthovirus – virus slintavky a kulhavky, virus hepatitidy A (HAV),

Hepatovirus - virus hepatitidy E (HEV)

CALICIVIRIDAE:

Calicivirus – lidský kalicivirus

ASTROVIRIDAE:

Lidské astroviry, viry skupiny Norwalk a další

REOVIRIDAE:



Orthoreovirus – Reovirus T1–T3

Rotavirus – lidské rotaviry

Orbivirus – arboviry - viry podskupiny Koloradské klíšťové horečky a podskupiny

Kemerovo (u nás Lipovnik a Tribeč)

BUNYAVIRIDAE:

Bunyavirus – arboviry – asi 100 druhů, u nás virus Ťahyňa

Phlebovirus – arboviry – viry skupiny flebotomových horeček - Papatači, Neapolské horečky atd.

Hantavirus – viry Hantaan, Dobrava, Puumala, Seoul atd.

TOGAVIRIDAE:

Rubivirus – virus zarděnek

FLAVIVIRIDAE:

Flavivirus – arboviry – virus Japonské B encefalitidy, dengue T1-T4, virus žluté zimnice, virus klíšťové encefalitidy

Hepatitis C virus - virus hepatitidy C VHC

ARENAVIRIDAE:

Arenavirus – virus lymfocytární choriomeningitidy

RHABDOVIRIDAE:

Vesiculovirus – arboviry - virus vesiculární stomatitidy

Lyssavirus – virus vztekliny

FILOVIRIDAE:

Filovirus – viry Marburg, Ebola a Reston

RETROVIRIDAE:

Oncovirinae - lidské T-lymphocytotropní viry HTLV1 a HTLV2

Lentivirinae – lidské viry získané imunologické nedostatečnosti HIV1 a HIV2

Infekce způsobené herpetickými viry

Herpes simplex

- Herpesvirus 1 - virus Herpes simplex typ 1 (HSV 1)
- Herpesvirus 2 - virus Herpes simplex typ 2 (HSV 2)
- Herpesvirus 3 - virus Varicella - zoster (VZV)
- Herpesvirus 4 - virus Epsteina a Barrové (EBV)
- Herpesvirus 5 - cytomegalovirus (CMV)
- Herpesvirus 6 - (HHV 6)
- Herpesvirus 7 - (HHV 7)
- Herpesvirus 8 - (HHV 8)

Herpes simplex virus způsobuje primoinfekci na kůži a sliznici. Typické jsou neuroinfekce s občasnými slizničními projevy. HSV perzistují v gangliích - HSV 1 v Gaserském gangliu, HSV 2 v sakrálních gangliích, VZV ve spinálních gangliích. Vlastností všech těchto virů je, že se mohou kdykoliv aktivovat.

Projevy infekce HSV1:

- herpes labialis
- aftózní stomatitida
- faryngitida
- keratokonjunktivitida
- ekzema herpeticum
- panaricium
- infekce CNS
- generalizovaný herpes

Projevy infekce HSV2:

- progenitální herpes
- infekce novorozence
- proktitida
- panaricium
- infekce CNS
- generalizovaný herpes

Herpesvirus 3 – VZV

Primoinfekce se projevuje jako varicella, výjimečně jako herpes zoster.

Projevy reaktivace:

– herpes zoster, neuralgie s výsevem nebo bez výsevu na kůži, Bellova paréza (n. VII)

Ke komplikacím řadíme meningoencefalitidu, pneumonii, vzácně teratogenní poškození.



Obrázek 43 Herpes zoster

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Diagnostické metody:

elektronová mikroskopie (výhody – je to rychlá metoda, k nevýhodám patří nízká specifita, nižší citlivost a metoda je drahá, vyžaduje speciální vybavení), kultivace na tkáňových kulturách (výhody - vysoce specifická, ve virologické laboratoři je to metoda poměrně jednoduchá, kmen patogenu zůstává k další analýze, nevýhodou je, že je to metoda pomalá a z některých vzorků je malá výtěžnost), průkaz antigenu – je to rychlá a jednoduchá metoda, průkaz DNA – vysoká citlivost metody a vysoká specifita (metoda volby u těžkých infekcí), průkaz protilátek

Léčba:

- hyperimunní gamaglobulin (léčba varicelly u dětí v těžké imunosupresi)
- antivirotika, ale virus nelze léčbou eradikovat

Prevence:

Vakcína proti VZV - používá se hlavně u dětí s defektem imunity.

Prozatím je krátká zkušenost s vakcinací.

Vakcíny proti HSV (hlavně HSV 2) jsou v experimentálním stadiu. Zaměření je především na prevenci HSV 2 u žen ve fertilním věku, počítá se s vakcínou i pro terapeutické použití.

Herpesvirus 4 - Virus Epsteina a Barrové (EBV)

Infekce se přenáší slinami, virus perzistuje hlavně v B lymfocytech a má schopnost transformovat hostitelskou buňku. Virus perzistuje celoživotně a může se aktivovat.

Etiologicky se podílí na vzniku nádorů (Burkittův lymfom), nasofaryngeální karcinom.

Patogeneze EBV infekce:

- vstupní branou je sliznice dutiny ústní
- primární pomnožení v buňkách nasofaryngu především v lymfatické tkáni
- infekce B lymfocytů

Klinický obraz EBV infekce:

Typickým obrazem primoinfekce je infekční mononukleóza - povlaková angína, lymfadenitis, hepatitis, splenomegalie, změny v krevním obrazu. Dále s odstupem času dochází k reaktivaci s nespecifickými příznaky.

- fatální lymfoproliferativní syndrom u imunosuprimovaných pacientů
- Burkittův lymfom u dětí v rovníkové Africe



Obrázek 44 Pseudomembranózní angína při infekční mononukleóze

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Diagnostika EBV:

- kultivace je velmi obtížná a málo citlivá – nepoužívá se
- krevní obraz a jaterní testy

Serologická diagnostika EBV:

- protilátky proti různým antigenům
- **EA - časný antigen**
marker probíhající infekce (50-60 % akutních)
- **VCA - kapsidový antigen**
- IgM marker akutní infekce, případně reaktivace
- IgG u probíhající infekce, přetrvávají měsíce
- **EBNA**
- IgM marker aktivní infekce
- IgG objevují se za 2-3 měsíce, perzistují celoživotně

Prevence a terapie:

- specifická prevence není dostupná
- léčba infekční mononukleózy je symptomatická
- léčba infekcí u imunosuprimovaných je málo úspěšná (acyklovir, interferon)

Herpesvirus 5 - Cytomegalovirus (CMV)

Virus perzistuje v buňkách slinné žlázy, ledvinných tubulů a leukocytů.

Perzistence je celoživotní, infikovaný jedinec občas vylučuje virus slinami nebo močí. Aktivace infekce při imunosupresi je závažná. Primoinfekce je většinou lehká nebo bezpříznaková.

Cytomegalovirus může působit závažné kongenitální infekce.

CMV - klinický obraz:

Primoinfekce:

- syndrom infekční mononukleózy
- horečnaté onemocnění s lymfadenitidou
- hepatitida (hlavně u kojenců)
- závažná vrozená infekce (mikrocefalie, slepota, hepatomegalie, purpura)
- vzácně pneumonie, kolitida, meningitida

Reaktivace u imunosuprimovaných:

- horečnaté onemocnění s lymfadenitidou
- pneumonie
- septické onemocnění
- kolitida, esofagitida
- retinitida (hlavně u HIV pozitivních)
- encefalitida

Kultivační průkaz:

Kultivace je poměrně snadná, virus roste s typickým cytopatickým efektem za 5 -25 dní na lidských diploidních buňkách. Kultivaci lze urychlit průkazem jaderných inkluzí monoklonální protilátkou (24-48 hod). Pro kultivaci lze použít moč, sliny, poševní sekret, mateřské mléko (obtížně), leukocyty (obtížně).

Průkaz rychlými metodami:

- průkaz antigenu a mikroskopie jsou málo citlivé (zastaralé)
- průkaz nukleové kyseliny (PCR)
 - rychlý a spolehlivý
 - lze použít většinu typů vzorků
 - lze provádět kvantitativní stanovení
 - citlivější než kultivace

Průkaz protilátek:

Stanovují se IgG, IgM protilátky, případně IgA.

- IgG protilátky jsou anamnestické, pro diagnostiku reaktivace mají malý význam
- IgM i IgA protilátky jsou u akutních infekcí i reaktivací

Serologie je jen orientační metodou a nelze říci, že přítomnost protilátek značí imunitu.

Terapie CMV infekce:

- hyperimunní gamaglobulin
- antivirová léčba

- profylaxe u pacientů s vysokým rizikem

Prevence:

Pokusy o zhotovení vakcíny jsou prozatím neúspěšné.

Důležitá jsou protiepidemická opatření u příjemců orgánů (CMV negativní příjemce by neměl dostat orgány od CMV pozitivního dárce) - vzhledem k vysoké promořenosti populace se obtížně dodržuje.

HHV 6 a 7

Viry HHV 6 a HHV 7 jsou příbuzné cytomegaloviru. Primoinfekce probíhá hlavně u dětí (exanthema subitum). Ve vyšším věku je toto onemocnění podobné infekční mononukleóze. Velká část primoinfektí probíhá bezpříznakově a viry perzistují v organizmu celoživotně. U imunosuprimovaných lze pozorovat reaktivaci infekce. Dále onemocnění bývá charakterizováno jako lymfoproliferativní a horečnaté onemocnění a typický je dřevový útlum. Diagnostika infekcí virem HHV 6 a HHV 7:

Kultivace virů je velmi obtížná, provádí se na speciálních lymfocytárních kulturách. Průkaz DNA – lze provádět z různých materiálů, je to nejcitlivější průkaz viru. Průkaz protilátek bývá většinou u obou typů viru zkřížený.

IgG a IgM protilátky detekujeme metodami imunofluorescence - IF nebo metodou ELISA. Problémy bývají stejné jako u jiných sérologických diagnostik perzistujících infekcí.



Obrázek 45 Exantema subitum (šestá dětská nemoc)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

HHV 8

Tento herpetický virus byl popsán u pacientů s defektem imunity (HIV). U imunodeficientních způsobuje Kaposiho sarkom (maligní nádor z lymfatických buněk). Vyskytuje se i u imunokompetentních osob, u nich způsobuje jen latentní infekci. Diagnostikou aktuálního stavu je jen PCR. Pro imunitní přehled lze provést sérologickou diagnostiku imunofluorescencí detekcí protilátek ve třídě IgG.



Obrázek 46 Kaposiho sarkom

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Na závěr stručný souhrn herpetických virů:

- herpetické viry jsou velmi rozšířené
- po primoinfekci perzistují v organismu celoživotně
- protilátky neznamenají imunitu
- jsou velkým problémem u pacientů s poruchou imunity
- léčbou lze utlumit jejich množení v organismu (ale ne je eradikovat)

Infekce způsobené picornaviry

Picornaviridae

(rod Enterovirus)

Charakteristika Enterovirů:

- RNA viry
- malé (27-30 nm), neobalené viry
- kubická symetrie
- odolné k pH 3-10, éteru
- cytopatické

Poliomyelitis – dětská přenosná obrana

Existují 3 sérotypy polioviru (poliovirus 1, 2 a 3). Pro poliovirus způsobující poliomyelitidu neboli dětskou obrnu je charakteristická cirkulace v lidském organismu. Virus se dostává do nasopharyngu, dále do tonzil, pak do lymfatických uzlin a do krve a do CNS anebo do sliznice střeva, dále pak do Peyerských plátů, do krve a pak do CNS.

Klinický obraz infekce poliovirem:

Chřipková fáze nespecifická trvá 2-3 dny. Meningeální fáze nastupuje za 4-7 dní po první fázi, paralytická fáze za 2-3 dny po meningeální fázi.

Vakcinace proti Polio:

a/ Salkova vakcína (1955)

neživá, injekční, dobře imunogenní, drahá

b/ Sabinova vakcína (1959)

živá atenuovaná, perorální, dobře imunogenní, levná

V České republice byla Sabinova vakcína používaná od roku 1960 do roku 2007, od té doby se používá inaktivovaná očkovač látka, a to v rámci hexavakcíny.

Plošné očkování proti dětské obrně bylo zahájeno v bývalém Československu v roce 1958 inaktivovanou poliovakcínou, v roce 1960 se inaktivovaná Salkova vakcína nahradila živou perorální Sabinovou a od roku 1961 se Československo stalo jednou z prvních zemí bez výskytu dětské přenosné obrny. V letech 2007-2008 se živá poliovakcína nahradila zesílenou inaktivovanou vakcínou tvořící jednu z mnoha složek hexavakcíny používané v rámci pravidelného očkování dětí. V roce 1988 vyhlásila Světová zdravotnická organizace cíl celosvětové eradikace dětské přenosné obrny, který byl splněn v evropském regionu (tj. včetně České republiky) v roce 2002.

Diagnostické metody:

Elektronová mikroskopie mozkomíšního moku, je to orientační metoda, méně citlivá, je nespecifická (nerozlišuje typy enterovirů), je drahá a náročná na přístrojové vybavení. Kultivace na tkáňových kulturách se provádí pouze v dobře vybavených virologických laboratořích. Technicky je tato metoda poměrně snadná, lze kultivovat ze stolice, výtěru z nosohltanu, z mozkomíšního moku. Virus lze dále typizovat, zjišťovat jeho genetické vlastnosti, invazivitu. Průkaz RNA Enteroviru metodou RT PCR je rychlý (2-8 hodin), vyžaduje zařízenou laboratoř pro molekulárně biologické metody. Metoda RT PCR (real time PCR) je založena na klasickém PCR s tím rozdílem, že speciální přístroj umožňuje kontinuálně monitorovat přírůstky DNA během každého cyklu (u klasického PCR se detekuje až finální produkt). Dále lze provádět molekulárně - biologickou typizaci kmenů pro epidemiologické účely, lze provádět i průkaz typově specifických protilátek. Typ takového průkazu je pracný (spolehlivé testy jsou pracné, např. neutralizace, každý typ se vyšetřuje zvlášť). Není to časná diagnostická metoda, z vyšetření v akutní fázi se často protilátky neprokáží. Vyšetření je nutno opakovat za 3 týdny a za 3 měsíce.

Epidemiologie poliovirů:

Člověk je jediný hostitel, přenos se děje fekálně - orální cestou. Ve vyspělých zemích se poliomyelitis prakticky nevyskytuje. Onemocnění lze importovat z rozvojových zemí.

Program eradikace polio WHO

- virologické vyšetřování pacientů s chabými parézami
- vyšetřování kontaktů
- povinné hlášení
- podrobná analýza izolátů

Eradikace poliomyelitidy:

Evropský region byl vyhlášen poliomyelitidy prostý v roce 2002.

K endemickým oblastem pořád patří: Afganistán, Egypt, Indie, Niger, Nigérie, Pákistán, neendemické jsou: Angola, Benin, Botswana, Burkina Faso, Čad, Etiopie, Eritrea, Guinea, Indonésie, Jemen, Kamerun, Mali, Pobřeží slonoviny, Středoafriická republika, Somálsko, Súdán.

Stále hrozí riziko importu poliomyelitidy!!!

Další infekce, způsobené Enteroviry:

meningitida (Coxsackie A, B, Echo), paralytické onemocnění (Coxsackie A, B, ECHO), horečka s exantémem (Coxsackie A, B, ECHO), akutní infekce HCD (Coxsackie A, B,



ECHO), myokarditida, perikarditida (Coxsackie B), pleurodynie (Coxsackie B), enteritida (ECHO).

Arboviry

Virus klíšťové encefalitidy je dalším z obávaných původců infekce nejen v našich podmínkách. Je to obalený RNA virus z čeledi Flaviviridae. Přenos původce je prostřednictvím klíšťat (*Ixodes ricinus*). Možný je také přenos nepasterizovaným mlékem. Rezervoárem jsou divoce žijící savci. Pro infekci je charakteristický dvoufázový průběh. Nejdříve se objevují bolesti hlavy, únava, horečka, nevolnost a bolesti svalů a kloubů. Po několika dnech obtíže samy odezní. U některých pacientů může nemoc touto fází skončit a dojde k úplnému uzdravení organismu. Ve své druhé fázi se nemoc projeví nástupem krutých bolestí hlavy, horečkou, světloplachostí a nevolností. Příznakem poškození nervového systému je ztuhnutí svalů na šíji, svalový třes, závratě, poruchy spánku a paměti, dezorientace. Čtvrtina nemocných má po prodělání klíšťové encefalitidy trvalé následky, jako jsou chronické bolesti hlavy, obrna lícního nervu, horních končetin nebo poruchy komunikace, koncentrace a spánku.

Diagnostika infekce a původce:

Kultivace viru z moku je obtížná, z krve ji prakticky nelze provést (krátká virémie v chřipkové fázi infekce). PCR z mozkomíšního moku je málo citlivá! Průkaz protilátek se provádí z krve v prvním vzorku a z moku opožděně (za 7-14 dní od příznaků infekce CNS). K tvorbě protilátek dochází přibližně nejdříve za 3 týdny po přisátí klíštěte.

Prevence a profylaxe:

Velký důraz je kladený na vakcinaci. Vakcína je účinná a nejsou známy vedlejší nepříznivé účinky. Inaktivovaná očkovací látka se používá ve třech základních dávkách - 3 injekce. Přeočkování se provádí po 3 letech, u dětí až po 5 letech. I přes zjištění hladiny ochranných protilátek u pacienta se doporučuje držet se očkovacího schématu, pouze takto je zaručená ochrana před onemocněním. Účinnost očkování je velmi dobrá.

Infekce způsobené Bunyaviry

Bunyaviry jsou RNA viry s helikální symetrií a obalem. Na člověka jsou přenášeny komáry, případně klíšťaty, rozšířené jsou po celém světě. U nás nalézáme především viry Ťahyňa, Tríbeč, Čalovo. Většinou jsou původci mírných neuroinfekcí.

Infekce způsobené Arenaviry

Arenaviry jsou RNA viry s kubickou symetrií a obalem. Hostitelé jsou drobní hlodavci, u nichž infekce perzistuje. K přenosu dochází močí hlodavců.

Arenaviry jsou rozšířené po celém světě, u nás jako virus LCM (lymfocytární choriomeningitidy). Infekce patří mezi méně závažné, diagnostika je sérologická.

Virus vztekliny (Lyssavirus)

Patří mezi Rhabdoviry, RNA virus, helikální symetrie, obalený. Rezervoárem jsou savci (nejen šelmy). Přenos na člověka je náhodný při pokousání zvířetem, mezilidský přenos popsán nebyl. U nás byla zaznamenána poslední importovaná nákaza v roce 1989. Infekce se projevuje atypickým chováním, v němž se projevují absence strachu, záchvaty zuřivosti, bolest při použití motorického svalstva, nadměrná produkce slin, křeče, nadměrná vzrušivost. Hydrofobie je následek ochrnutí polykacích svalů. Smrt nastává v kómatu za současné paralýzy všech svalů.

V řadě zemí celého světa nadále riziko nákazy trvá.

Léčba není dostupná, průběh infekce je vždy smrtelný. Je možná postexpoziční profylaxe i preexpoziční vakcinace.

Původci virových neuroinfekcí: enteroviry, virus klíšťové encefalitidy, adenoviry, herpetické viry, další sporadická agens (Bunyaviry, Arenaviry, Influenza virus, Lyssavirus). U těchto onemocnění se objasní etiologie u méně než 50 % případů.

Virové hepatitidy

Virus hepatitidy A

Je to malý RNA virus (27-30 nm), geneticky homogenní, odolný k zevnímu prostředí, přenáší se fekálně-orální cestou. Vstupní branou je zažívací trakt. Virus hepatitidy A je výhradně lidským patogenem a vylučuje se stolicí. Příznaky jsou chřipkové (zvýšená teplota, bolesti hlavy, bolesti svalů, únava, rýma, kašel, zánět spojivek), žludeční a střevní (nechutenství, nevolnost, zvracení, průjem, jindy naopak zácpa, říhání, nadýmání, tlak v pravém podžebří). Vzácněji dochází k projevům kloubním (bolestem, otokům), kožním (svědění, někdy i vyrážce), nervovým (bolestem hlavy, zánětlivým postižením jednoho i více nervů). Po této fázi nastupuje vlastní fáze onemocnění, kdy dochází ke zhoršení potíží a často se objevuje „žloutenka“. Současně s ní má pacient tmavší moč, světlou stolicí a svědění kůže.

Patogeneze:

Inkubační doba je v rozmezí 15-50 dnů. Virus se pomnožuje v buňkách střeva.

Viremie je krátká, virus infikuje buňky jaterního parenchymu, vylučuje se pak žlučí do střeva. Příznivé u tohoto typu viru je, že nevyvolává chronické infekce.

Diagnostika:

Virus prokazujeme elektronmikroskopicky ve stolicí, lze ho prokázat v druhé polovině inkubační doby a krátce po začátku klinických příznaků.

Průkaz antigenu a RNA: ve stolicí, podobně jako mikroskopie.

Průkaz protilátek: je to hlavní diagnostický marker, průkaz protilátek **anti HAV** a celkových protilátek (Ig total) nás informuje zejména o rozvinuté akutní infekci.

Imunita se vytváří po prodělané infekci a po očkování.

Specifické IgM protilátky jsou typické pro akutní infekci, ale i v období rekonvalescence mohou přetrvávat (i déle než rok). Specifická léčba není k dispozici, profylakticky lze podávat lidský gamaglobulin. Preventivně je vhodná vakcinace vakcínou Havrix nebo v kombinované vakcíně Twinrix s hepatitidou B.

Virus hepatitidy B

DNA virus hepatitidy B má složitý rozmnožovací cyklus. Bohatá antigenní struktura je důležitá pro diagnostiku a umožňuje nám přesněji posuzovat fázi infekčního onemocnění. Virus je citlivý k vnějším vlivům, přenáší se krví a sexuálně. Virus patří výhradně k lidským patogenům. Markery hepatitidy B – antigeny: **HBs Ag** se tvoří v nadbytku v akutní i chronické fázi, lze ho v séru detekovat několik dní až týdnů před a několik týdnů až měsíců po začátku onemocnění a jeho přetrvávání déle než 6 měsíců je klasifikováno jako stav chronického nosičství. **HBe Ag** - marker akutní a aktivní infekce.

Protilátky: **anti HBs** – tvoří se v rekonvalescenci, po očkování, **anti HBe** se tvoří v rekonvalescenci, **anti HBc** protilátky jsou celoživotní známka prodělané infekce.

Diagnostika DNA HBV: detekce genomové DNA HBV metodou polymerázové řetězové reakce - PCR.

Klinický obraz hepatitidy B:

U akutního nástupu je většinou parenterální výkon v anamnéze. Inkubační doba je 2-6 měsíců, průběh bývá protrahovaný. Jedná se o závažnější typ onemocnění, než infekce virem hepatitidy typu A, protože sebou nese vyšší riziko možných zdravotních problémů po

přeléčení a taky je zde možnost, že se tělo viru vůbec nezavírá a přetrvává v tzv. chronické formě onemocnění, což může mít za následky další zdravotní obtíže. Příznaky hepatitidy typu B jsou velmi podobné jako u typu A. Onemocnění přechází do chronicity v 5-10 %.

Terapie virové hepatitidy B: V popředí je imunoterapie interferonem, příp. léčba antivirotiky.

Virus hepatitidy C

RNA virus, zatím nekultivovatelný, odpovídá rodu Flavivirus. Rozlišujeme 6 typů a asi 40 subtypů, virus je citlivý k vnějším vlivům. Přenáší se krví a sexuálně, jedná se o výhradně lidský patogen.

Klinický obraz hepatitidy C:

Začátek infekce je vesměs nenápadný, častá je anikterická forma. Nemoc přechází do chronicity až v 80 % případů. Na podkladě infekce HCV se rozvíjí cirhóza jater až karcinom.

Diagnostika HCV:

Nepřímý průkaz - vyšetření protilátek (metodou ELISA) a potvrzení vyšetření protilátek. Dále pak metodou PCR průkaz virové RNA, kvantitativní stanovení RNA (počet kopií).

Protilátky se tvoří při infekci i po uzdravení, nelze s jistotou říct, že vypovídají o klinickém obrazu. Tvoří se až za 1-3 měsíce (u akutní infekce jsou často neprokazatelné). Je to nejjednodušší diagnostická metoda. Vyšetřením RNA lze diagnostikovat i časnou akutní infekci. Metoda RT PCR je technicky náročnější, kvantitativní stanovení počtu kopií RNA slouží k monitorování aktivity viru a účinnosti léčby.

Terapie hepatitidy C:

Interferon (imunomodulační), virostatikum, kombinovaná terapie.

Virus hepatitidy D

Dependentní virus - není schopen samostatného rozmnožování. Je závislý na HBV, je to RNA virus. Pro hepatitidu D je typická koinfekce s HBV často s těžším průběhem nebo se může jednat o superinfekci chronické HBV.

Nikdy nemůže jít o samostatnou infekci u pacienta bez HBV!

U nás je toto onemocnění vzácnější. Byl prokázán přenos krví a sexuálně.

Diagnostika HDV:

- průkaz infekce HBV
- průkaz IgG a IgM protilátek
- průkaz virové RNA

Hepatitida E

Rozšířená je ve střední a východní Asii, Africe (i Středomoří), střední Americe. Přenáší se fekálně-orální cestou. Průběh onemocnění je závažnější než u HAV.

U těhotných žen je smrtnost až 20%, pozitivní je, že infekce nepřechází do chronického stádia. Cestovatelská anamnéza je jedna z důležitých informací, která nás vede ke správné diagnóze.

Virus hepatitidy E je RNA virus z čeledi Caliciviridae, je odolný k vnějšímu prostředí.

Diagnostika HEV:

- průkaz protilátek
- průkaz viru ve stolici na konci inkubační doby

Viry hepatitidy G

Patří do skupiny RNA virů podobně, jako virus hepatitidy C. Přenos krví byl prokázán (posttransfuzní). Může se vyskytovat i u zdravé populace.

Diagnostika HGV:



- průkaz virové RNA
- průkaz protilátek není zatím spolehlivý

Ostatní viry, asociované s hepatitidou: CMV, EBV, HSV, adenoviry, enteroviry

HIV/AIDS

Virus HIV je retrovirus, RNA virus o velikosti 100-120 nm. V zevním prostředí je labilní a má velkou genetickou variabilitu.

Výskyt typů viru HIV:

HIV 1 - západní a centrální Afrika, Evropa, USA, Thajsko, jižní Afrika, Indie, Zaire, Brazílie, Rumunsko, Gabun, Kamerun,

HIV 2 - centrální Afrika

Způsob přenosu HIV:

- 1. Krví a krevními deriváty** (příjemci krve a krevních derivátů v rozvojových zemích, i. v. toxikomani)
- 2. Sexuální cestou** (homo i heterosexuální přenos)
- 3. Z matky na plod**

Patogeneze AIDS:

Infekce vstupuje receptory CD 4. K pomnožení viru dochází v lymfatické tkáni a vytváří se virová nálož v plasmě. Defekt imunity způsobuje indukovaná apoptóza (indukovaná smrt) CD4 lymfocytů.

Klinická stadia:

A - asymptomatický průběh, akutní infekce, benigní lymfadenopatie

B - malé oportunní infekce (orofaryngeální nebo vulvovaginální kandidóza, průjem, vlasatá „hairy“ leukoplakie, periferní neuropatie)

C - velké oportunní infekce (CMV retinitida, pneumocystová pneumonie, toxoplasmová nebo HIV encefalitida, tuberkulóza, Kaposiho sarkom, lymfom, kryptokokové infekce)

Laboratorní stadia infekce lze rozlišit podle absolutního počtu CD4 lymfocytů:

A	nad 500/μl
B	200-500/μl
C	pod 200/μl

V rezistenci vůči HIV sehrává roli cytotoxický efekt T lymfocytů, který závisí na dávce viru a genetické výbavě hostitele. Cytokiny mají schopnost blokovat receptory pro HIV.

Laboratorní diagnostika HIV: provádí se průkaz antigenu - v akutní fázi a v období rozvinutého onemocnění. Průkaz protilátek je základní vyšetřovací metoda.

Průkaz RNA (kvantitativní) – touto metodou stanovujeme virové nálože HIV a dále lze provádět průkaz provirové DNA metodou PCR.

Průkaz protilátek se provádí většinou testy typu ELISA a slouží ke screeningu i diagnostice a je nutná confirmace. Vyšetření krve na protilátky proti HIV je doporučováno za cca 3 měsíce od rizikového sexuálního kontaktu či jiné rizikové situace (kontakt s krví). Do té doby nemusí být protilátky vytvořeny v detekovatelné výši – tzv. imunologické okénko.

Epidemie HIV: první vlna postihla severní Ameriku a Evropu. K přenosu docházelo krví, homosexuálním stykem - 70-80 % infikovaných byli muži. Druhá vlna postihla hlavně Afriku,

Asii a šíří se do dalších zemí. Přenáší se především heterosexuálním stykem, poměr infikovaných mužů a žen 1:1.

Prevence infekce HIV: důraz se klade především na omezení expozice - výchovné programy, kontrola krve a krevních derivátů. Dále je nutné zabránit rozvoji infekce a omezení přenosu z matky na dítě. Účinná terapie vede ke zpomalení rozvoje choroby - léčba antivirovými preparáty. Vakcíny jsou stále ve stádiu vývoje.

Kandidátské vakcíny proti HIV:

a/ typ vakcíny

povrchové antigeny (subjednotkové)

atenuovaný virus

poxvirus s expresí HIV antigenů

b/ problémy s přípravou

variabilita viru HIV, dlouhá doba do vzniku imunity

riskantní pro děti, virus přežívá v hostiteli

Preparáty pro léčbu HIV: principem léčby je neutralizace receptorů inhibitory reversní transkriptázy.

Chřipka a ostatní respirační infekce

Respirační infekce jsou nejčastější příčinou onemocnění.

Je nutné rozlišovat chřipku (influenza) a ostatní respirační infekce. Respirační infekce jsou považovány za banální infekce, ale přesto je nelze podceňovat a jsou významnou příčinou úmrtí (v ČR řádově stovky úmrtí ročně).

Virus chřipky je RNA virus z čeledi Orthomyxoviridae, je to obalený virus, velikost 80-120 nm. Má povrchové antigeny - **hemagglutinin (H)** a **neuraminidázu (N)**. Virové partikule přežívají v zaschlých kapénkách hlenu při pokojové teplotě. Rozlišujeme lidské druhy A, B, C a řadu zvířecích virů (kachna, kuře, prase). Jednotlivé druhy se liší nukleoproteinem. Výše zmíněné povrchové antigeny jsou proměnlivé a vytváří antigenní shift nebo antigenní drift.

Antigenní shift – to je velká změna povrchových antigenů chřipky A v intervalu 10-30 let.

Antigenní drift je menší změna ve struktuře povrchových antigenů, tyto menší změny se objevují každý rok, jsou časté u typů A i B, méně u typu C. Imunita mezi driftovými variantami je částečně zkřížená. Tvoří se protilátky proti povrchovým antigenům i nukleoproteinu, neutralizační účinek mají hlavně protilátky proti hemagglutininu. Na obranných mechanismech se podílejí cytotoxické CD8 lymfocyty. U této infekce je imunita hlavně druhově a typově specifická. Imunita není celoživotní, klesá s driftovou změnou viru.

Virus chřipky A

Typy chřipky rozlišujeme podle neuraminidázy a hemagglutininu.

- **H1 N1** (Španělská chřipka 1918-1919)
- **H2 N2** (Asijská chřipka 1957-1958)
- **H3 N2** (Hongkongská chřipka 1968-1969)
- **H1 N1** (reintrodukován 1977)

V současnosti kolují typy H1 N1 a H3 N2.

Ptačí kmény s potenciální patogenitou pro člověka představují velké riziko.

1. Typ H5 N1 - Hong Kong 1997- 2003

epidemie na drůbežích farmách, cca 20 úmrtí lidí - v letech 2003-2005 epidemie na drůbežích farmách v jihovýchodní Asii, přenos na člověka opakovaně, smrtnost 30-70 %

2. Typ H7 N1 - Itálie 1999-2001

epidemie drůbeže, přenos na člověka neprokázán

3. Typ H7 N7 - Holandsko, Belgie, SRN 2003

epidemie na drůbežích farmách, u lidí způsobuje konjunktivitidy, lehké flu-like infekce, omezený interhumánní přenos

4. Typ H9 N2 - Hong Kong

2004 záchyt na drůbežích farmách, vyšší riziko přenosu na člověka

Klinický průběh - inkubační doba trvá několik hodin až 2 dny, přenáší se kapénkovou infekcí nebo předměty kontaminovanými sekrety nemocného. Typický je náhlý začátek s teplotou přes 39 °C, bolest hlavy, kloubů, svalů, zimnice, později se objevují příznaky respirační infekce.

Komplikace mohou být respirační a mimorespirační, např. pneumonie, laryngotracheobronchitis, myositis, carditis, postižení CNS.

Patogeneze infekce:

Většina infekcí probíhá jako lokální infekce respiračního traktu. Celkové příznaky jsou způsobeny interleukiny a interferonem. Generalizace je vzácná a velmi závažná (myokarditida, encefalitida).

Diagnostika chřipky: průkaz antigenu ve výtěru z nosohltanu, v laboratoři (ELISA, Imunofluorescence) záchyt agens v 50-80 %, bed side testy (rychltesty v ordinaci) -záchyt agens ve 40-70 %. Důležitý je správný odběr a transport materiálu.

Průkaz antigenu je významný v případě indikace léčby virostatiky. Průkaz RNA ve výtěru nebo sekretech je rychlý a velmi citlivý, zatím není běžně dostupný. Kultivace se provádí na tkáňových kulturách, virus roste bez cytopatického efektu. Záchyt infekčního agens je na odběru a transportu materiálu. Dále pak průkaz na kuřecím embryu - prokazuje se hemaglutinací a záchyt závisí na odběru a transportu materiálu. K nepřímým diagnostickým metodám řadíme sérologická vyšetření, a to KFR z párových sér (význam hlavně pro epidemiologické účely a stanovení etiologické diagnózy) a hemaglutinačně inhibiční test HIT – test spíše pro účely epidemiologického sledování.

Průkaz protilátek IgG, IgM, IgA – umožňuje urychlení diagnostiky.

Epidemiologie chřipky A:

V době vzniku antigenního shiftu vznikají velké pandemie s vysokou smrtností. V minulosti při pandemii Španělské chřipky zemřelo 20 milionů osob, při pandemii Asijské chřipky několik milionů. Každoročně vznikají epidemie, při kterých zemřou v ČR stovky až tisíce osob. Vysoká nakažlivost je zásadní zejména pro vnímavé osoby. Vysoké riziko infekce představuje chřipka pro staré a chronicky nemocné.

Chřipka B

Způsobuje menší epidemie lokálního charakteru, nebyly popsány shiftové, jen driftové změny. Klinický průběh je obvykle méně závažný a výskyt komplikací je nižší. Smrtnost je také nízká.

Chřipka C

Většinou je příčinou sporadických onemocnění. Průběh onemocnění je lehký, klinicky se spíše podobá ostatním infekcím horních cest dýchacích.

Terapie chřipky:

Doporučujeme většinou symptomatickou léčbu, antivirové preparáty jako amantadin, rimantadin jsou vhodné k léčbě a profylaxi chřipky A. Lze doporučit inhibitory neuraminidázy k léčbě a profylaxi chřipky A a B a k léčbě komplikací.

Možnosti prevence:

Jedinou účinnou prevencí je vakcinace. Vakcína se připravuje každoročně podle zachycených kmenů chřipky na konci sezóny a odhadu cirkulace viru v příští sezóně. Vakcína je subjednotková, split, usmrcená. Pro intranasální podání se připravuje živá očkovací látka a ta obsahuje kmeny chřipky A a B. Doporučuje se profylaktické podávání antivirotik v některých ojedinělých případech.

Ostatní virové respirační infekce způsobují: viry parainfluenzy (typy 1-4), RS virus, adenoviry, coronaviry, rhinoviry (více než 100 typů), enteroviry (některé typy)

Běžně diagnostikované respirační infekce:

a/ Adenovirus

Kultivace je poměrně snadná, průkaz antigenu (případně i DNA) je dostupný. Sérologické vyšetření je dostupné a spolehlivé.

b/ RS virus – kultivace je obtížná, ale možná. Průkaz antigenu (RNA) je obtížnější, Sérologické vyšetření je dostupné a poměrně spolehlivé.

c/ Parainfluenza - kultivace a průkaz antigenu je obtížný, nepřímá sérologická diagnostika je málo spolehlivá.

Agens, u nichž není běžně dostupná diagnostika

Rhinoviry - je jich více než 100 typů (serologie typově specifická), kultivace je obtížná, závažnost infekcí obvykle menší.

Coronaviry - závažnost infekcí je obvykle malá, kultivace ani serologie se neprovádí.

Coronavirus SARS

Největší epidemický výskyt byl v letech 2002-2003, začátek šíření nastal v Číně, vysoká nakažlivost, šíření respiračním i fekálně orálním způsobem, exportován byl do řady zemí světa, další osud viru je nejasný, patrně koluje mezi zvířaty, od roku 2004 nebyl zachycen u člověka.

Virová onemocnění projevující se na kůži:

Bradavice /verrucae/ - původcem jsou **papillomaviry**. Rozlišujeme morfotypy: verrucae vulgares a verrucae planae.

10 Mykologie

Mykologie je medicínský obor, který se zabývá studiem původců mykotických infekcí. Řada medicínsky významných fungi je běžně přítomna v přírodě. Z celkového množství tisíce asi pouze 100 druhů vyvolává onemocnění lidí. Fungi rozdělujeme na kvasinky a plísně.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

10.1 Obecná mykologie

Morfologie fungi

Kvasinky patří k jednoduchým mikroorganismům, které mají sférický nebo ovoidní tvar. Všechny kvasinky jsou si velmi podobné, a když si je prohlédneme pod mikroskopem, tak vidíme

jednotlivé částečně pučící buňky. Na pevných médiích při kultivaci v laboratorních podmínkách připomínají bakteriální kolonie. Právě kvasinky netvoří mycelia, ale některé kvasinky mohou vytvářet myceliové struktury, např. *Candida albicans*.

Plísně jsou mnohobuněčné mikroorganismy s mnoha specializovanými strukturami, které mají specifické funkce. Plísně můžeme rozdělit následujícím způsobem podle morfologie:

1. **Hyfy** charakterizujeme jako základní jednotku plísní. Velmi jemná tenká vlákna tvoří spleť utvar zvaný **mycelium**. U některých vláken můžeme pozorovat předělení septem umožňujícím pohyb cytoplazmy mezi buňkami.
2. **Kondiofory** jsou také hyfy, ale na svém konci nesou drobné jednobuněčné kulovité nepohlavní spory nazvané konidie.
3. **Sporangiofory** charakterizujeme jako hyfy, na jejichž konci jsou vakovité útvary naplněné sporama – **sporangia**.
4. **Konidie** jsou spory nepohlavní různé velikosti a různého typu.

Spory označujeme jako pohlavní struktury, které vznikají spojením dvou buněk.

Fungi se rozmnožují pohlavně i nepohlavně. Podle nálezů v klinickém materiálu se předpokládá, že infekce vyvolávají konidie. Sexuální formy fungi v klinickém materiálu nenalzáme. Taxonomie a klasifikace lékařsky významných fungi je založená na biochemických vlastnostech, mikroskopické morfologii a vzhledu kolonií. Kultivace se liší od nároků fungi a musí splňovat růstové i kultivační podmínky. Lékařsky významné fungi rostou většinou za aerobních podmínek. **Sabouraudův agar** je standardní kultivační půda, Ph 4-6,5 a vysoký obsah sacharidů. Patogenita je daná virulencí patogenních fungi a je velmi nízká. K přenosu z člověka na člověka dochází velmi vzácně. Mikroskopicky po obarvení Gramem jsou kvasinky tmavěmodré až černé.

10.2 Speciální mykologie

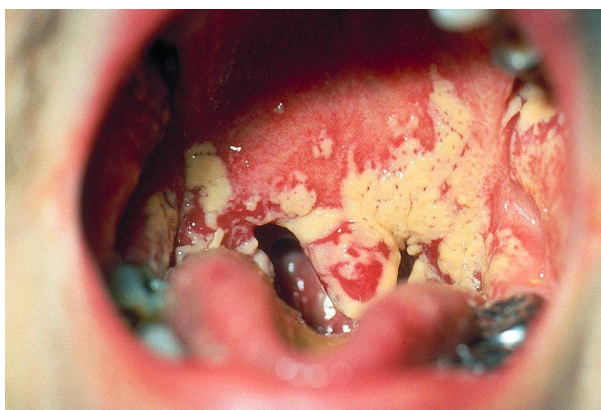
Medicínsky významné fungi dělíme podle typu infekce – mykózy na:

1. **Povrchové mykózy** – obvykle postihují povrchovou vrstvu kůže, vlasy i nehty. Původce označujeme obecně jako dermatofyty. Nejčastějšími původci jsou rody *Trichofyton*, *Microsporum* i *Candida*.
2. **Podkožní mykózy** obvykle postihují podkožní tkáň, vzácně může docházet k rozsevu do organismu a k postižení orgánů. Řadíme sem třeba sporotrichózy.
3. **Systémové mykózy**, říkáme jim také hluboké mykózy. Postihují především dýchací systém. K nejznámějším patří rod *Histoplasma* vyvolávající infekce u zdravých lidí.
4. **Oportunní mykózy** vyvolávají původci nepatogenní pro člověka. Výskyt těchto onemocnění ve vyšší míře byl zaznamenán u osob se sníženou imunitou – např. pacienti s AIDS. Velmi důležitými lidskými patogeny jsou: ***Candida albicans***, rod ***Aspergillus*** a ***Cryptococcus neoformans***.

Kandidóza

Infekce vyvolané plísní ***Candida albicans*** nebo jinými typy (***Candida tropicalis***, ***Candida krusei***, ***Candida parapsilosis***) jsou popisovány jako nejčastější onemocnění. Candidy jsou všudypřítomné saprofytické mikroorganismy a u řady lidí jsou součástí běžné fyziologické flóry kůže i sliznic. Terapie antibiotiky, glukokortikoidy, imunosupresivy, dále diabetes mellitus, těhotenství, obezita, ale i jiná endokrinní onemocnění a jakékoliv oslabení imunitního systému jsou jedním z hlavních predisponujících faktorů pro klinickou manifestaci kandidózy. Ve většině případů se jedná o endogenní infekci, možný je ale i

přenos pohlavní cestou, např. poševní kandidóza. Klinický obraz je závislý na infikované oblasti. Typickým místem jsou intertriginózní infekce v místech vlhké zapádky – ohraničené léze erytému. Perianální infekce způsobená *Candidou* má klinický obraz jako bílý pruritus ani. Pro mykotickou vulvovaginitidu je charakteristický bílý až žlutavý výtok a silný pruritus. U partnera pacientky s takovou infekcí se může objevit mykóza na glans penis. Bolestivé a nepříjemné onemocnění je kandidové paronychium. Infekce začíná kolem nehtů jako bolestivý zarudlý otok, který později hnisá. Nemoc může přejít v infekci pod nehtem a typické je postupné odloučení poškozeného nehtu. Soor je orální kandidóza, může se vyskytovat i u zdravých dětí, většinou však postihuje nedonošené novorozence. U nemocných HIV může být jedním z prvních klinických příznaků. Indikativní diagnóza pro AIDS je kandidová ezofagitida. Systémové kandidózy diagnostikujeme u imunitně oslabených jedinců - pacienti s neutropenií, pacienti s AIDS. Probíhají nejčastěji pod obrazem sepse, endokarditidy, meningitidy a panophthalmitidy, k méně častým patří postižení ledvin, plic, jater nebo meziobratlových plotének. Slizniční kandidózu diagnostikujeme poměrně snadno podle klinického obrazu. *Candida* spp. je komenzálem člověka, bývá součástí běžné fyziologické flóry a její nález je třeba hodnotit vždy v návaznosti na klinické příznaky. V terapii doporučujeme lokální nebo celková antimykotika. Závěrem můžeme říci, že všechny formy systémových mykóz - kandidóz jsou velmi závažné a život ohrožující. Léčba probíhá intravenózní aplikací antimykotik během hospitalizace. Pokud dochází k recidivám, je nutné hledat příčiny ve snížení celkové obranyschopnosti organismu.



Obrázek 47 Orální kandidóza

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Aspergilóza

Aspergillus fumigatus se vyskytuje v prostředí, ale i na kůži a sliznicích člověka. Spory houby vnikají nejčastěji do dýchacích cest, kde může docházet buď k jejich kolonizaci nebo k imunitní reakci na přítomný **aspergilový antigen**, a to se projeví jako alergická aspergilóza s příznaky průduškového astmatu. Lokálně dojde ke vzniku **aspergilomu** – vyplnění plicní dutiny aspergilovými vlákny nebo vzniká **invazivní plicní aspergilóza**. Příčiny vzniku a šíření této infekce jsou opět ve snížení obranyschopnosti organismu léčbou kortikoidy, v důsledku popálenin, v důsledku granulocytopenie. Začátek infekce se zpravidla projeví horečkou, rozsáhlou infiltrací plicní tkáně a následně pak hematogenním rozsevem do dalších orgánů. Preferujeme léčbu Amfotericinem B nebo Itrakonazolem. Pozitivní je, že se infekce nepřenáší z člověka na člověka.

Mykoorganismy – původci kožních infekcí:

Infekce, které způsobují mykózy, můžeme rozdělit na infekce povrchové a ostatní infekce.

1. Infekce povrchové - dermatomykózy - postihují vnější vrstvu pokožky, vlasy, nehty, chlupy. Jsou to: **dermatofytózy (tinea)** způsobené keratofilními houbami a **ostatní dermatomykózy**.

Dermatofytózy - klinický projev:

- postihují pokožku - epidermofytózy
- postihují vlasy a chlupy – trichofytózy
- postihují nehty – onychomykózy

Původce - **dermatofyta** rozdělujeme do 3 rodů:

a/ Epidermophyton - *Epidermophyton floccosum*

b/Trichophyton - *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton verrucosum*

c/ Microsporum

Původcem onychomykózy je ve většině případů *Trichophyton rubrum*, protože je ve zkušebních otázkách dotaz na nejčastějšího původce onychomykóz, ale v textu toto není uvedeno!

K nejčastějším infekcím vyvolanými těmito mikroorganismy patří: **Tinea pedis** - vyskytuje se mezi prsty, nehty.



Obrázek 48 *Tinea pedis*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Tinea cruris - postižena je kůže bérců.



Obrázek 49 *Tinea cruris*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Tinea unguium (onychomycosis) - postiženy jsou nehty.



Obrázek 50 Onychomykóza

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Tinea barbae – postihuje hlavně vousy a **Tinea capitis** – postihuje hlavně vlasy.

Ostatní dermatomykózy:

Pityriasis versicolor je povrchní plísňové onemocnění kůže způsobené kvasinkou *Malassezia furfur*.

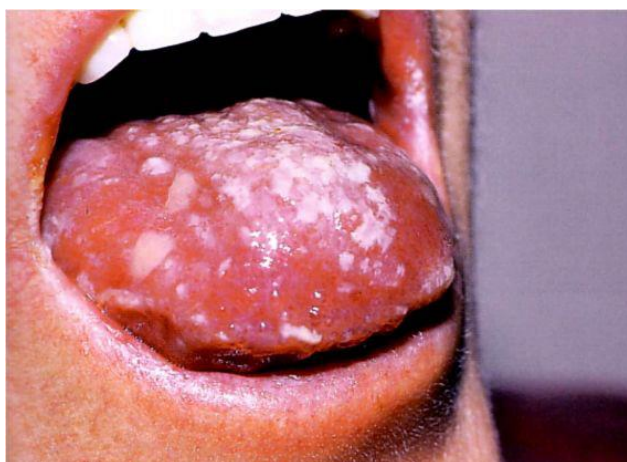


Obrázek 51 *Pityriasis versicolor*
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Kožní kandidóza - způsobená *Candida albicans*, *Candida krusei*, dále pak **kandidová kolpitis** - zánět pochvy, **vulvovaginitis** – zánět zevních rodidel, pochvy, **balanitis** - zánět žaludu.



Obrázek 52 *Balanitis candidosa*
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>



Obrázek 53 Moučnivka (soor)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Dále sem patří infekce typu **cheilitis angularis** – zánět ústních koutků, **soor** – zánět sliznice úst, **ezophagitis** – zánět jícnu. Postiženy mohou být nehty, nehtová lůžka, apod.

2. Mykózy subkutánní

Sporotrichóza - *Sporothrix schenckii* způsobuje chronický granulomatózní zánět.



Obrázek 54 *Sporothrix schenckii*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Systémové mykotické infekce postihují vnitřní orgány u osob s těžkou poruchou imunitního systému (u nemocných AIDS) a jsou velmi závažné.

11 Parazitologie

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

11.1 Obecná parazitologie

Parazitologie studuje infekce člověka způsobené organismy živočišného původu, tzn. prvoky, červy a členovci.

Parazitismus můžeme definovat jako jednu z forem soužití organismů. Parazit může být definován jako organismus žijící na úkor jiného organismu, hostitele. Všechny lékařsky významné mikroorganismy jsou parazité pro lidského hostitele. Tradičně se lékařská parazitologie zabývá parazitickými prvoky, červy a členovci.

Mnoho parazitů může prodělavat celý vývoj v jednom hostiteli, ale řada parazitů má i více hostitelů, přičemž vývoj může probíhat neparazitickým způsobem. Vývoj parazitů může být ukončen vytvořením sexuálních stádií a např. finálně kopulací. Definitivním hostitelem je člověk např. u *Tasemnice bezbranné* nebo mezhospitelem u Plasmodií způsobujících malárií, také u *Toxoplasma gondii*. Původce parazitárních infekcí diagnostikujeme přímo i nepřímo. K metodám přímého průkazu patří mikroskopická diagnostika a kultivace. K nepřímé diagnostice patří sérologický průkaz protilátek metodou komplement fixační reakce – KFR, metodou nepřímé imunofluorescence a různými typy metody ELISA. V současnosti lze využít i metodu PCR, ale rutinně se zatím tato vyšetření neprovádí.

Nejčastěji v parazitologii vyšetřujeme stolici, krev, vaginální sekret, sekret z uretry u mužů, perianální stěr, duodenální obsah. U vyšetření stolice používáme metodu tlustého nátěru podle Kato – zachycujeme vajíčka helmintů, dále využíváme metodu flotační koncentrační dle Fausta – tato metoda zachycuje cysty prvoků a vajíčka u nás běžných helmintů. K nejjednodušším metodám patří zhotovení nativního preparátu, kdy zachytíme v čerstvé stolici nebo v obsahu duodena vegetativní stadia prvoků. Zhotovují se také barvené preparáty a slouží k přesné identifikaci cyst prvoků zachycených ve flotační metodě nebo k zachycení vegetativních stadií zjištěných v nativním preparátu. U vyšetření na enterobiózu se odebírá tzv. perianální stěr a nejčastěji využíváme metodu dle Grahama. Postup je jednoduchý a účinný – průhlednou lepicí pásku v šířce podložního skla a v délce $\frac{3}{4}$ skla nalepíme kolmo na intergluteální rýhu směrem k análnímu otvoru. Před přiložením pásky gluteální svaly od sebe odtáhneme a potom je na několik vteřin k sobě přitlačíme. Poté pásku stáhneme, lepicí plochou nalepíme na podložní sklíčko a uhladíme, abychom zcela vytlačili vzduchové bubliny. Vždy je potřeba za zbývající $\frac{1}{4}$ podložního sklíčka nalepit štítek se jménem a příjmením vyšetřovaného pacienta.

11.2 Speciální parazitologie

Protozoa jsou jednobuněčné organismy, které mají životní cyklus složený ze sexuální a asexuální reprodukce. Patří sem původci malárie, toxoplazmózy, amébiázy a trichomoniázy a další. Můžeme je zařadit do 4 tříd:

1. Bičíkovci – *Flagellata*

Patří k pohyblivým prvokům, kteří disponují jedním nebo více bičíky. Rozmnožují se nepohlavně, nejčastějšími zástupci jsou trichomoniázy, lamblie, trypanozomy.

2. Kořenonožci – *Rhizopoda*

Jejich pohyb je umožněn přeléváním cytoplasmy, při kterém tvoří pseudopodie – panožky. Améba – měnavka je typickým příkladem. Améby se rozmnožují nepohlavně dělením a vytvářejí velmi odolné cysty. Radíme sem např. *Entamoeba histolytica* nebo *Naegleria fowleri*.

3. Výtrusovci – *Sporozoa*

Mají složitý vývojový cyklus, rozmnožování probíhá u nich pohlavně i nepohlavně. Patří sem plasmodia a toxoplasmy.

4. Nálevníci – *Ciliophora*

Jsou pohybliví prvoci, rozmnožují se nepohlavně i pohlavně. Jediný lidský patogenní zástupce je *Balantidium coli*.

Celkově jsou patogenní prvoci vyvolavateli široké škály klinických projevů podle tkání a orgánů, které napadají a trvale tam přetrvávají.

Patogenní červy postihující lidský organizmus můžeme rozdělit do dvou velkých skupin:

1. Plathelminthes – ploší červi, medicínsky významné dvě třídy – *Cestoides* – tasemnice a *Trematodes* – motolice.

2. Nematelminthes – oblí červi, zahrnují medicínsky významné druhy ve třídě hlíst – Nematodes.

Hlísti parazitují ve střevním traktu, mají oblé a protáhlé tělo, jsou odděleného pohlaví. Lidská populace bývá nejvíce infikovaná těmito druhy: ***Enterobius vermicularis* – roup dětský, *Trichuris trichiura* – tenkohlavec bičíkový, *Ascaris lumbricoides* – škrkavka dětská, *Trichinella spiralis* – svalovec stočený, *Strongyloides stercoralis* – háďátko střevní, měchovec dvanácterníkový – *Ancylostoma duodenale***. Člověk bývá většinou náhodným hostitelem.

Tasemnice mají dlouhé článkované tělo, mnohdy dosahují délky od 2 cm do 10 m. Každý článek je oboupohlavní a tasemnice je hermafrodit.

Motolice prodělávají během své existence složitý vývojový cyklus a potřebují k tomu tři hostitele. Přežívají v důležitých tkáních orgánů lidského těla, které závažně poškozují. Rozlišujeme motolice krevní, jaterní a plicní. Diagnostika je založena vesměs na mikroskopickém průkazu vajíček, larev nebo dospělých helmintů a jejich článků. Nepřímou diagnostiku zajišťují sérologické testy.



Obrázek 55 Tasemnice bezbranná

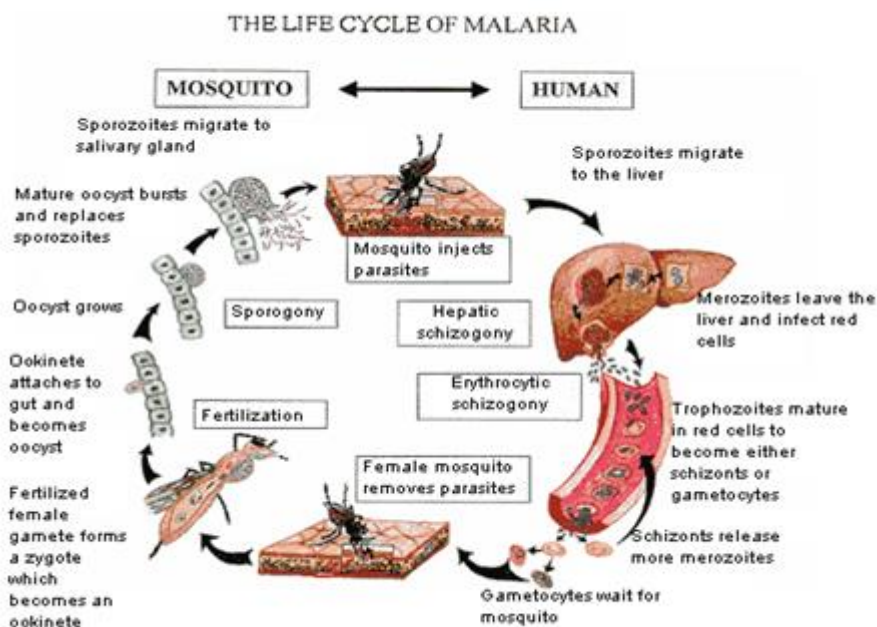
Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Malárie

Infekce zvaná malária je způsobená čtyřmi druhy parazitů - prvoků z rodu *Plasmodium* – *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*. Původcem tropické malárie je *Plasmodium falciparum*. Nákaza je přenášena komáry z rodu

Anopheles. Světová zdravotnická organizace uvádí, že ročně se ve světě infikuje a onemocní asi 300 milionů lidí a kolem 2 milionů zemře na tuto infekci. K hlavním endemickým oblastem patří zejména: subsaharská Afrika, Indie, jihovýchodní Asie a Amazonská oblast Jižní Ameriky. Importovaná malárie se vyskytuje stále častěji v tzv. nemalarických oblastech. Každoročně registrujeme desítky onemocnění v České republice u zdejších občanů, kteří se nakazili v endemických oblastech. Inkubační doba onemocnění je od 8 do 42 dnů. Pokud je původcem infekce *Plasmodium falciparum* nebo *Plasmodium vivax*, může ke klinickým projevům dojít až za několik měsíců od infikování. Závažnost infekce je závislá od druhu plasmodia.

Životní cyklus plasmodií je složitý a jeho znalost je důležitá pro včasnou a správnou diagnostiku infekce. V průběhu 1–3 týdnů se *Plasmodium* množí v gastrointestinálním traktu komárů. Výsledkem tohoto množení jsou sporogonie.



Obrázek 56 Životní cyklus *Plasmodií*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

SPOROGENIE začínají vznikat jako samčí a samičí gametocyty, které přenáší samička komára rodu *Anopheles*, a které získává sáním krve infikovaných osob. Výsledkem oplodnění je zygota, která proniká do stěvné stěny komára, mění se v oocystu. Sporozoity se vyvinou z oocyst, které prasknou a rozšíří se mezi komáry. Některé ze sporozoitů penetrují do slinných žláz komárů a infikují lidi při bodnutí komárem.

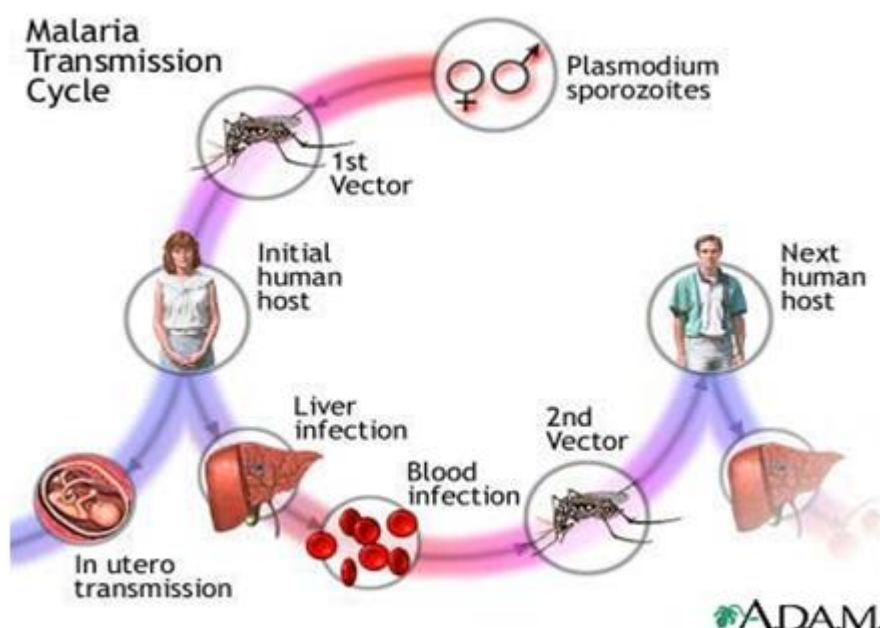
SCHIZOGONIE – jsou asexuálním stadiem životního cyklu *Plasmodia* a objeví se během dvou týdnů v lidských hepatocytech. Hepatocyty jsou obvykle infikovány během 1 hodiny po bodnutí komárem a sporozoity se dostávají do podkožních kapilár. Každý sporozoit produkuje asi 2000–40000 merozoitů. Merozoity způsobují rupturu stěny hepatocytu a dostávají se do krevního oběhu cirkulací.

ERYTROCYTÁRNÍ FÁZE je iniciovaná rozpadem merozoitů v červených krvinkách. Další formou je prstencovitý trofozoit – multinukleární schizont. Schizonti se vyvíjejí v 6–24 merozoitů z dceřiných buněk. Plasmodium vivax, Plasmodium ovale a Plasmodium falciparum způsobují rozpad erytrocytů do 48 hodin. Plasmodium malariae způsobuje rozpad erytrocytů do 72 hodin.

Epidemiologie:

Plasmodia se vyskytují obvykle v tropických oblastech. Ročně onemocní asi 125 miliónů lidí asi ve 104 zemích světa.

Schéma přenosu malárie



Obrázek 57 Schéma přenosu malárie

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Klinický obraz infekce:

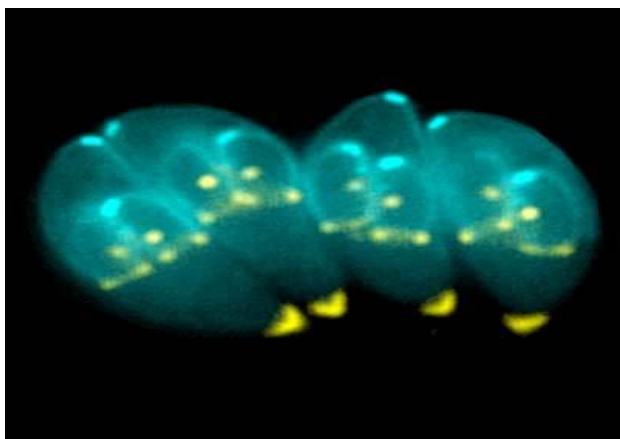
V popředí je horečka, anemie s intravaskulární hemolýzou, cirkulační změny ve střídání vasodilatace a vasospasmu, může také docházet k projevům akutní glomerulonefritidy, splenomegalie a trombocytopenie. Závažný průběh může mít infekce neimunní osoby tropickou malárií, kdy dochází k napadení většího počtu erytrocytů. Erytrocyty se hromadí v kapilárách orgánů a narušují krevní zásobení mozku, plic, jater a ledvin. Dalšími projevy jsou hyperpyrexie, rychle se rozvíjející anémie, žloutenka, krvácivé projevy, porucha vědomí a šok s následným selháním plic nebo ledvin. V diferenciální diagnostice musíme na tuto infekci pomyslet vždy, když se jedná o pacienta s horečkou po návratu z endemických oblastí, kde se vyskytuje malárie. Diagnózu vždy potvrdí opakované mikroskopické vyšetření tzv. **tlusté kapky a tenkého nátěru periferní krve**. Terapie musí být zahájena včas antimalariky. Léčbu antimalariky volíme podle typu Plasmodia, např. fluorchin (Delagil), praguaniol (Paludrine), meflochin (Lariam) a doxycyklin (Deoxymykoin) a onemocnění podléhá povinnému hlášení.

Profylaxe

Velmi důležitá je profylaxe při výjezdech do rizikových oblastí ve světě. Situaci monitoruje celoročně Světová zdravotnická organizace a aktuální informace lze získat na internetových stránkách anebo je mají zdravotnická pracoviště, která zajišťují očkování před cestou do zahraničí – očkovací centra a centra cestovní a tropické medicíny. Chemoprofylaxe nemusí vždy ochránit před nákazou, ale neimunního člověka ochrání před těžkým průběhem infekce.

Toxoplasmoza

Toxoplasma gondii je etiologickým agens této infekce u dospělých, dětí i novorozenců. Tento mikroorganismus je intracelulárním parazitem.



Obrázek 58 *Toxoplasma gondii* (imunofluorescence)

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Životní cyklus *Toxoplasma gondii*:

Definitivním hostitelem parazita je kočka domácí a další příslušníci kočkovitých. V buňkách hostitele se parazit intenzivně množí ve formě tachyzoitů. Během této fáze se tvoří protilátky a postupně vznikají klidové formy, což jsou tkáňové cysty s bradyzoity. Kočka jako finální hostitel vylučuje trusem do okolí oocysty prvoka *Toxoplasma gondii*. Přenos lidské toxoplasmózy se děje různými cestami v různých populacích, geografických oblastech a věkových skupinách. Nejběžnějšími cestami přenosu jsou požitím potravy kontaminované oocystami, kontaminací rukou při práci s půdou, infekci lze dále získat při požití tkáňových cyst v tepelně nedostatečně zpracovaném mase a transplacentárním přenosem akutně infikovaných žen na plod. Inkubační doba je 5-28 dnů.

Klinický obraz:

Většina onemocnění se projevuje lymfadenopatií v cervikofaciální oblasti. Dále je typická faryngitida, horečka, hepatomegalie, splenomegalie, v krevním obraze je atypická lymfocytóza, infekce může napodobovat infekční mononukleózu, meningoencefalitidu, pneumonii, myokarditidu, hepatitidu, chorioretinitidu.

Existuje několik klinických forem toxoplasmózy. Získaná toxoplasmóza u imunokompetentních osob má u řady lidí inaparentní průběh. Postižení oka - chorioretinitis souvisí téměř vždy s kongenitálním postižením. Chronický průběh nemoci je typický pro gynekologickou formu doprovázenou často opakovanými potraty. Pacienti s AIDS mají typickou ložiskovou encefalitidu. Kongenitální toxoplasmóza je onemocnění plodu

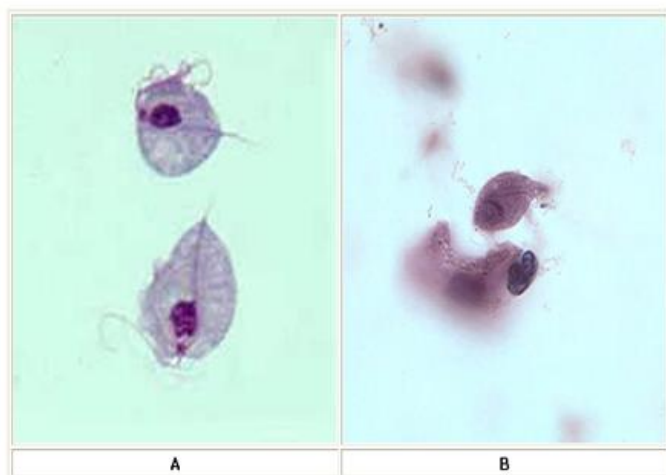
následkem akutně získané infekce matky před nebo během těhotenství. V časně fázi těhotenství může dojít k potratu anebo k poškození vyvíjejícího se plodu ve smyslu hydrocefalu, mikroftalmie, chorioretinitis bilateralis, dále jsou časté kalcifikace v mozku a jiná poškození plodu. V pozdní fázi těhotenství může infekce proběhnout inaparentně a projeví se pouze séropozitivitou dítěte.

Laboratorní diagnostika:

V popředí je nepřímá sérologická diagnostika – průkaz protilátek typu IgM, IgG, IgA, IgE, avidity IgG protilátek a mikroskopický průkaz metodou nepřímé imunofluorescence - NIF, která nám poskytuje ucelený obraz o situaci v lidském organismu. Terapie využívá zejména sulfonamidy a pyrimethamin po dobu 3-4 týdnů. Nákaza podléhá povinnému hlášení.

Infekce prvokem *Trichomonas vaginalis*

Původcem této infekce je prvok *Trichomonas vaginalis* a způsobuje infekce pouze u lidí. *Trichomonas vaginalis* je etiologickým agens sexuálně přenosného onemocnění většinou u žen.



Obrázek 59 *Trichomonas vaginalis*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Klinický obraz infekce:

Přítomnost *Trichomonas vaginalis* dráždí vaginální sliznici u žen. Typickým klinickým obrazem je nažloutlý a bělavý výtok, doprovází ho svědění. V hodnocení MOP – mikroskopického obrazu poševního je to číslo V. U mužů způsobuje uretritidu a prostatitidu, event. epididymitidu. U pacientů mužského pohlaví infekce může probíhat bez klinického nálezu. V terapii je lékem volby Metronidazol.

Toxokaróza

Je to nejčastější tkáňová helmintóza vyskytující se u nás. Původcem je *Toxocara canis* nebo *Toxocara cati*. Zdrojem infekce jsou psi a kočky, cestou přenosu jsou psí a kočičí výkaly. Infekce je známa jako larva migrans visceralis. Klinické příznaky infekce: bolest hlavy, bolest břicha, horečka, zduření uzlin a prchavé vyrážky. Postiženy jsou mnohé orgány - plíce, játra, mozek nebo srdce. V krevním obrazu bývá leukocytóza, eozinofilie, hypergamaglobulinémie

a zvýšené hladiny aminotransferáz (ALT, AST). Onemocnění se objevuje spíše u starších dětí a dospělých. Lékem volby je Albendazol, podáváme ho po dobu 10-14 dnů. Terapie kortikosteroidy je na místě ve vážných případech jako prevence úmrtí.

V předcházení tomuto onemocnění je důležitá hygiena, omývání zeleniny a spadaného ovoce, zamezení přístupu zvířat na pískoviště a hřiště.

Parazitární onemocnění projevující se na kůži:

Svrab (scabies)

Zákožka svrabová (*Sarcoptes scabiei*) - je to silně svědící dermatitida na zápěstí, mezi prsty, na mamárních areolách u žen, na prepuciu u mužů.



Obrázek 60 Svrab

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Scabies norvegica je forma svrabu u imunodeficitních osob.

Pediculosis - zavšivení - veš Anoplura způsobuje pupence až otoky.



Obrázek 61 *Pediculosis pubis*

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Štěnice - štěnice domácí - *Cimex lectularius* je původce infekce urticaria cimicina.

Pulikóza – pokousání způsobují blechy, na kůži se napadení projeví jako papuly uprostřed hemoragické.



Obrázek 62 Pulikóza

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Klíšťata – způsobují přenos klíšťové encefalitidy, boreliózy.

12 Vakcinace

Otevřením našich hranic se objevily zcela nové možnosti cestování. Poznávání nových zemí a kultur s sebou přináší i značná zdravotní rizika a možnost nákazy infekčním onemocněním. U laické a někdy i u části odborné veřejnosti se setkáváme s názorem, že infekční onemocnění dnes již nepředstavují žádná rizika, neumírá se na ně, protože ta nejzávažnější již vymizela. Vakcinací opravdu došlo ke značnému poklesu výskytu některých nemocí nebo se neobjevují vůbec (např. dětská obrna), ale některé se opět objevují i přes pravidelnou a povinnou vakcinaci (např. stoupá výskyt dávivého kašle, parotitidy).

V případě, že je člověk infikován určitým mikroorganizmem - bakterií nebo virem, reaguje lidský organismus po určité době tvorbou protilátek, které poškozují a likvidují původce infekce. Napoprvé tyto protilátky nedokáží zabránit již rozvíjejícímu se infekčnímu onemocnění. Později díky imunologické paměti je chráněn organismus před napadením stejnou bakterií nebo virem a reaguje na opakovaný stejný podnět rychlejší tvorbou protilátek. V budoucnu to představuje pro člověka imunitu proti opakovaným onemocněním. Některé infekce se pak třeba u téhož člověka neopakují, např. spalničky, zarděnky, dávivý kašel, jednotlivé typy virových hepatitid. Vytvořená imunita má u jiných infekcí pouze krátkodobé trvání a tyto infekce se mohou opakovat (chřipka, salmonelózy, různé typy viróz). Vakcinace je vlastně napodobení přirozeného modelu a procesu tvorby protilátek. Do organismu se místo první expozice vpravuje očkovací látka – napodobenina. Později při setkání s tímto mikroorganizmem dojde k rychlému vytvoření protilátek a tím se zabrání onemocnění, event. infekce proběhne v mírnější formě. Potřebná dosažená hladina protilátek je závislá na vlastnostech konkrétní očkovací látky a aplikuje se jedna nebo více dávek základního očkování. Obrana proti dané infekci je vytvořena za jeden až tři týdny po ukončení základního

očkování. Později se podle potřeby provádí přeočkování, aby se imunita nabytá základním očkováním prodloužila. Optimální časové rozvržení dávek je pevně stanoveno a zajišťuje nejlepší způsob dosažení a dlouhodobého udržení vysokých hladin protilátek a tedy i imunity.

Historie vakcinace nám ukazuje, že myšlenka preventivně ochránit lidi před infekčními nemocemi není vůbec nová. Pravděpodobně se tato myšlenka zrodila v Číně a vycházela z empirického poznání. Osoby, které onemocněly variolou – černými pravými neštovicemi, v následující epidemii zůstaly před nákazou uchráněny. Primitivní variolizaci začali provádět léčitelé. Malé množství sekretu a hnisu z puchýřků od nemocných s mírnou formou varioly přenesli na zdravé osoby, které opravdu v následující epidemii ne onemocněly.

O mnoho století později, v 18. století, se k této myšlence vrátili lékaři v Anglii. Teprve na konci 19. století byly připraveny očkovací látky na skutečně vědeckém podkladě. Francouzský lékař **Louis Pasteur** se proslavil studiem vztekliny a antraxu a významně se podílel na vývoji vakcín. Vakcinace proti vzteklině v té době poprvé zachránila životy lidem, když byla vakcína podaná osobám pokousaným vzteklymi zvířaty. Další očkovací látky byly připraveny v první polovině minulého století (např. proti choleře, břišnímu tyfu, později proti tuberkulóze, tetanu, dávivému kašli a záškrtu). Vývoj vakcinačních látek byl přesto rozpačitý a věřilo se, že řada infekčních nemocí bude vymýcena díky antibiotikům. Později se dostavily první přesvědčivé výsledky vakcinace, když se ukázalo, že naděje vkládané do antibiotické terapie jsou víceméně falešné. Zhruba asi od poloviny padesátých let minulého století došlo opět k obnovení zájmu o vývoj očkovacích látek a jejich použití v prevenci infekčních onemocnění. Rychlý pokrok umožnil především rozvoj lékařské mikrobiologie, hlavně nových laboratorních technik a metod ve virologii.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

12.1 Očkovací látky, organizace

Očkovací látky, které patří k nejstarším, byly připraveny jako suspenze usmrcených mikrobů – bakterií nebo virů fyzikálně a chemicky inaktivovaných anebo z nepatrného množství živých mikrobů uměle oslabených (dlouhodobým pasážováním za specifických laboratorních podmínek natolik, že ztratili schopnost vyvolat onemocnění). Tito mikrobi si zachovali schopnost podmínit a vyvolat tvorbu protilátek a vyvolat tak ochranu před infekcí a tyto vakcíny navozují zpravidla velmi dobrou a dlouhodobou imunitu. Postupem času se klasické metody přípravy očkovacích látek doplňovaly a rozšiřovaly a zjistilo se, že z hlediska protilátkové odpovědi jsou podstatné pouze určité struktury těla mikroorganismů, kupříkladu některé virové proteiny nebo polysacharidy z povrchu bakterií.

K základním typům v současnosti používaných očkovacích látek patří:

1. Živé oslabené vakcíny

Jsou to čištěné kmeny vakcinálních živých laboratorně pěstovaných virů, event. bakterií. Používáme je k prevenci spalniček (morbilli), příušnic (parotitis), zarděnek (rubeola), dětské přenosné obrny (poliomyelitis), TBC, žluté zimnice.



2. Inaktivované - usmrcené vakcíny

Jedná se o čištěné suspenze usmrcených bakterií nebo virů. Takovou je např. vakcína proti dávivému kašli (resp. inaktivovaný původce dávivého kašle jako jedna ze složek kombinované vakcíny proti záškrtu, tetanu a dávivému kašli), jeden z typů vakcín proti dětské přenosné obrně, vakcína proti klíšťové encefalitidě nebo vakcína proti virové hepatitidě A.

3. Anatoxiny

Jsou to toxiny – bakteriální jedy upravené tak, že neškodí, ale podněcují tvorbu protilátek. Uplatnění mají zejména v prevenci těch infekčních onemocnění, v jejichž rozvoji hraje důležitou roli právě toxin bakterií. Je to u tetanu nebo záškrtu. Patří k těm nejkvalitnějším vakcínám.

4. Subjednotkové vakcíny

K subjednotkovým vakcínám patří očkovací látky připravené rozložením viru na menší části (s použitím pouze těch, které jsou pro tvorbu protilátek potřebné), jejich čištěním a koncentrací, např. to jsou vakcíny proti chřipce.

5. Polysacharidové vakcíny

Tyto vakcíny se připravují koncentrací účinné složky - povrchového polysacharidu bakterie. Dále jsou také významným objevem 70. let a používají se v prevenci meningokové meningitidy nebo infekcí vyvolaných pneumokoky či bakterií *Haemophilus influenzae b*.

6. Rekombinované vakcíny

Patří k nim především moderní očkovací látky připravené genetickou rekombinací genů kvasinek, určitých bakterií nebo tkáňových kultur tak, že samy produkují části potřebné pro tvorbu protilátek, které se čistí a koncentrují do vakcín, je to např. běžně používaná očkovací látka proti virové hepatitidě B.

7. Chemické vakcíny

Jedná se o typ moderní očkovací látky připravené chemickou syntézou účinných komponent. Jejich hlavními výhodami je biologická čistota a předpokládané nízké výrobní náklady. Jejich příprava je prozatím spíše na úrovni experimentů a v praxi ještě běžné uplatnění nemají.

V České republice se používají vakcíny po předchozím prověření Státním ústavem pro kontrolu léčiv. S jejich použitím a registrací musí souhlasit hlavní hygienik ČR. Pro povinné pravidelné očkování dětí je vybrán vždy jeden typ vakcíny. Pro jiná očkování, např. na vlastní žádost, je ponechána možnost volby registrované vakcíny. U nás jsou pravidla vakcinace podložena zákonem 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně souvisejících zákonů a jeho prováděcími vyhláškami. Očkování plánují, organizují a kontrolují pracovníci hygienické služby a očkovacích center. Samotné očkování pak provádějí praktičtí lékaři, především praktičtí lékaři pro děti a dorost. Prvním plošným očkováním na území České republiky (v tehdejší Československu) bylo očkování proti pravým neštovicím (od roku 1919). Celosvětové očkování proti této nemoci vedlo až k jejímu úplnému vymýcení a ukončení očkování v roce 1979. Povinné očkování v České republice je realizováno proti záškrtu (od roku 1946), černému kašli (od roku 1958), infekcím způsobeným bakterií *Haemophilus influenzae b* (od roku 2007), dětské obrně (od roku 1960), žloutence typu B (od roku 2001), tetanu (od roku 1952), spalničkám (od roku 1969), zarděnkám (od roku 1982), příušnicím (od roku 1987) a tuberkulóze (1947 – 2010).

Významným milníkem bylo zavedení očkování kombinovanou hexavakcínou v roce 2007, která chrání proti 6 nemocem zároveň, a ukončení plošného očkování proti TBC k 1. listopadu 2010. V současnosti se u nás povinně očkuje proti 9 nemocem, a to 2 vakcínami. Proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím se očkuje tzv. **MMR vakcínou**, proti záškrtu, černému kašli, invazivním infekcím způsobeným *Haemophilus influenzae b*, dětské obrně, žloutence typu B a tetanu chrání děti **hexavakcína**.

Ve smyslu současně platných předpisů rozlišujeme:

- **pravidelné očkování** dětí do 15 let, ve stanoveném věku a stanovených časových intervalech
- **zvláštní očkování** osob, které jsou při své pracovní činnosti vystaveny zvýšenému nebezpečí nákazy
- **mimořádné očkování**, pokud to vyžaduje epidemiologická situace
- stanovená **očkování osob v souvislosti s jejich pobytem v zahraničí**, respektující mezinárodní pravidla
- **očkování při poraněních** a nemocech zvyšujících nebezpečí získání infekce, poskytující ochranu již bezprostředně ohroženým osobám

Pravidelné očkování se řídí celoplošnými programy, které vycházejí ze dvou základních principů. Je to bezplatnost a povinnost podrobit se očkování, které jsou legislativně podloženy. Cílem všech těchto programů je dosáhnout, aby procento očkovaných bylo co nejvyšší a mohl se tak uplatnit konečný efekt očkování, kterým je výrazné snížení výskytu onemocnění a úmrtí na konkrétní infekční nemoci. Strategie očkování vychází ze skutečnosti, že teprve v případě, je-li naočkována převážná většina dětí (u některých infekcí je nutné naočkovat až 95 % dětí), se může cirkulace dané bakterie nebo viru v populaci přerušit a konkrétní infekce tak může vymizet. V případě vysoce nakažlivých onemocnění, např. spalniček, stačí malé procento neočkovaných a vůči viru spalniček vnímavých osob a virus se v populaci udrží. Velmi důležité však je, aby byly očkovány všechny děti s výjimkou těch, u kterých jsou potvrzeny zdravotní překážky (kontraindikace) očkování. Dlouhodobě uplatňované programy pravidelného očkování dětí v České republice odpovídají mezinárodní úrovni a vycházejí z doporučení Světové zdravotnické organizace. Můžeme konstatovat, že doposud tyto programy fungovaly výborně a díky tomu u nás vymizely tak nebezpečné nákazy jako dětská přenosná obrna, záškrť nebo spalničky a výskyt ostatních infekčních nemocí, proti kterým se již řadu let očkuje, se snížil na minimální hodnoty. V posledním období ale zjišťujeme, že se začínají více objevovat některé infekce i přes pravidelné očkování proti nim, např. pertuse, parotitida a ukazuje se, že protilátky vytvořené vakcínací v dětství nemají protektivní účinek po celý život. Podle nového doporučení je třeba zvážit u dospělých od 40 let přeočkování jednou dávkou vakcíny. Velmi dobrá epidemiologická situace ve skupině infekcí, proti kterým se dlouhodobě očkuje, je obrovským úspěchem epidemiologů, pediatrů, mikrobiologů a infekcionista. Pravidelné a povinné očkování dětí je uvedeno v očkovacím kalendáři.

Lékaři, kteří provádějí očkování, musejí zaznamenávat vztažné údaje (datum, druh očkování, šarže vakcíny) do očkovacího průkazu dítěte.

12.2 Aktivní imunizace

Očkování proti tuberkulóze

TBC je vážné onemocnění i v současnosti a může přejít do chronicity a následně vést k úmrtí. Tuberkulózu vyvolává bakterie *Mycobacterium tuberculosis* a jiné typy – např. *Mycobacterium avium - intracellulare*. Celosvětový nárůst počtu nemocných tuberkulózou,

patrný v 90. letech minulého století, se přičítal relativně vysokému počtu HIV pozitivních osob, které se mohly stát jejím obnoveným zdrojem. Epidemiologická situace není ve všech zemích stejná. Ve středoevropském regionu patří Česká republika mezi země s relativně nejnižší roční incidencí tuberkulózy (asi 8 případů onemocnění na 100 000 obyvatel, tedy cca 600 diagnostikovaných případů TBC ročně). Preferovaným místem záchytu mykobakterií jsou plíce, odkud se mohou krevním řečištěm nebo lymfatickým systémem šířit do dalších orgánů. V některých případech může akutní tuberkulóza propuknout i po letech po expozici a záchytu mykobakterie. Příznaky jsou většinou nepřiliš výrazné, nemocní trpí únavou, hodně se potí (hlavně v noci), mají zvýšenou teplotu a ubývají na váze. Nejčastější plicní formy se projevují vleklým kašlem. Naopak nejnebezpečnější formou je miliární nebo meningeální tuberkulóza s nejistým výsledkem léčby a možnými neurologickými následky. Komplikací posledních let se stává antibiotická rezistence některých mykobakteriálních kmenů.

Očkování se provádí v ČR pouze u dětí s indikacemi k očkování proti TBC, indikaci posoudí lékař novorozeneckého oddělení zejména na základě zákonným zástupcem dítěte vyplněné části dotazníku k definici rizika tuberkulózy. Lékař novorozeneckého oddělení vyplní dotazník a jako součást propouštěcí zprávy ho předá registrujícímu praktickému lékaři pro děti a dorost. V případě, že dítě má indikaci k očkování, současně informuje pracoviště kalmetizace.

Základní očkování proti tuberkulóze se provede nejdříve čtvrtý den a nejpozději do konce šestého týdne po narození dítěte. Po třech až čtyřech měsících po tomto očkování se provede přešetření místa vpichu a regionálních uzlin. Pokud se nezjistí žádná lokální reakce, provede se přeočkování zpravidla po skončení základního očkování prováděného v rámci pravidelného očkování dětí, a to v případě negativního tuberkulinového testu.

Další přeočkování se provede v době od dovršení jedenáctého do dovršení dvanáctého roku věku dítěte po předchozím provedení tuberkulinového testu, a to jen u dětí s negativním tuberkulinovým testem.

Indikace očkování proti tuberkulóze

1. Jeden nebo oba z rodičů dítěte nebo sourozenec dítěte nebo člen domácnosti, v níž dítě žije, měl/má aktivní tuberkulózu.
2. Dítě, jeden nebo oba z rodičů dítěte nebo sourozenec dítěte nebo člen domácnosti, v níž dítě žije, se narodil nebo souvisle déle než 3 měsíce pobývá/pobýval ve státě s vyšším výskytem tuberkulózy než 40 případů na 100 000 obyvatel. Ministerstvo zdravotnictví každoročně uveřejní seznam států s vyšším výskytem tuberkulózy do 30 dnů od aktualizace provedené Světovou zdravotnickou organizací.
3. Dítě bylo v kontaktu s nemocným s tuberkulózou.
4. Indikace k očkování vyplývá z anamnestických údajů poskytnutých lékaři novorozeneckého oddělení nebo registrujícímu praktickému lékaři pro děti a dorost zákonnými zástupci dítěte.

Obecně byl konsensuálně přijat intradermální způsob podání BCG vakcíny. Důvodem je skutečnost, že dávku lze dobře odměřit a její podání lépe kontrolovat. Obvyklým místem podání je deltoidní oblast. Objem vakcinační dávky může být různý v závislosti na věku očkovanice, komerčního typu vakcíny nebo způsobu podání. V Česku se dětem mladším než 1 rok intradermálně aplikuje 0,05 ml vakcíny o koncentraci 5-5,6 log VBC (počet živých bakteriálních zárodků), tj. 100 000-400 000 VBC/dávka. Děti starší jednoho roku nebo dospělí se očkují dávkou 5,3-5,9 log VBC o objemu 0,1 ml.

OČKOVACÍ KALENDÁŘ platný v ČR k 1. 1. 2014

Termín věk dítěte	Povinné očkování		Nepovinné očkování	
	Nemoc	Očkovací látka	Nemoc	Očkovací látka
od 4. dne – 6. týdne	Tuberkulóza (pouze u rizikových dětí s indikací)	BCG SSI vaccine		
od 6. týdne			Rotavirové nákazy	Rotarix, Rotateq (1. dávka)
od 9. týdne (2. měsíc)	Záškrt, tetanus, černý kašel, dětská obrna, žloutenka typu B, onemocnění vyvolaná Haemophilus influenzae b	Infanrix hexa (1. dávka)	Pneumokoková onemocnění*	Synflorix, Prevenar 13 (1. dávka)
			Rotavirové nákazy	Rotarix, Rotateq (2. dávka - za měsíc po 1. dávce)
3. měsíc	Záškrt, tetanus, černý kašel, dětská obrna, žloutenka typu B, onemocnění vyvolaná Haemophilus influenzae b	Infanrix hexa (2. dávka-za měsíc po 1. dávce)	Pneumokoková onemocnění*	Synflorix, Prevenar 13 (2. dávka - za měsíc po 1. dávce)
			Rotavirové nákazy	Rotateq (3. dávka - za měsíc po 2. dávce)
4. měsíc	Záškrt, tetanus, černý kašel, dětská obrna, žloutenka typu B, onemocnění vyvolaná Haemophilus influenzae b	Infanrix hexa (3. dávka-za měsíc po 2. dávce)	Pneumokoková onemocnění*	Synflorix, Prevenar 13 (3. dávka - za měsíc po 2. dávce)
11.-15. měsíc			Pneumokoková onemocnění*	Synflorix, Prevenar 13 (přeočkování)
15. měsíc	Spalničky, zarděnky, příušnice	Priorix (1. dávka)	Plané neštovice, (1. spalničky, zarděnky, příušnice)	Priorix-Tetra (1. dávka)
do 18. měsíce	Záškrt, tetanus, černý kašel, dětská obrna, žloutenka	Infanrix hexa (4. dávka)		

typu B, onemocnění
vyvolaná
Haemophilus
influenzae b

21. až 25. měsíc	Spalničky, zarděnky, příušnice	Priorix (2. dávka - za 6-10 měsíců po 1. dávce)	Plané neštovice, spalničky, zarděnky, příušnice	Priorix-Tetra (2. dávka)
5. - 6. rok	Záškrt, černý kašel	tetanus, Infanrix (přeočkování)		
10. - 11. rok	Záškrt, černý kašel, obrna	tetanus, dětská Boostrix polio (přeočkování)		
13. rok (jen dívky)			Onemocnění lidským papilomavirem (karcinom děložního čípku)*	Cervarix, Silgard (celkem 3 dávky)
14. rok (u neočkovaných v 10-11 letech)	Tetanus	Tetavax, Tetanol Pur (přeočkování)	Záškrt, černý kašel	tetanus, Boostrix, Adacel (přeočkování)

*hrazeno ze zdravotního pojištění

Poznámky

Povinné očkování je plně hrazené. V rámci povinného očkování lze použít jinou očkovačtinu, než zajistí Ministerstvo zdravotnictví (v souladu s § 47 zákona č. 258/2000 o ochraně veřejného zdraví). Tato očkovačtina musí být v České republice registrována a výlohy za ni pak platí rodič sám.

Očkování proti dětské přenosné obrně (poliomyelitidě)

Poliomyelitida je nebezpečná virová infekce, která probíhá často lehce nebo dokonce bezpříznakově. Viry se vylučují stolicí nemocného člověka a mohou se dál šířit při nedostatečné hygieně, dále kontaminovanou vodou či potravinami. Existuje však i kapénkový způsob přenosu nákazy, kterou mohou přenášet nemocní i nosiči. Virus se zachytí a začne šířit na sliznicích nosu, ústech, v krku a střevech pacienta. Inkubační doba onemocnění je 7-14 dní. Dětská obrna může mít mírnou formu – mezi příznaky onemocnění pak patří zvýšená teplota, nevolnost, bolest hlavy a břicha, někdy i ztuhlost zad a nohou. V těchto případech se pacient vyléčí bez trvalých následků. Pokud ovšem viry zasáhnou CNS, mohou způsobit těžší formu nemoci. V konečném důsledku tak může vzniknout paralytická dětská obrna s následným ochrnutím nejčastěji dolních končetin a trvalými následky po zbytek života. Při napadení mozku dochází k selhání životně důležitých orgánů. Smrtící kombinací je také postižení dýchacích a polykacích svalů.

Před zavedením očkování v České republice v roce 1960 se poliomyelitida vyskytovala v epidemiích přicházejících přibližně v pětiletých intervalech, kdy onemocnělo vždy několik tisíc dětí (formou s obrnami). Právě díky pravidelnému očkování se toto onemocnění u nás nevyskytuje už od počátku šedesátých let. WHO vyvinula velké úsilí pro eradikaci tohoto onemocnění. Poliomyelitida se však stále ve světě vyskytuje a riziko importované nákazy

turisty nebo expozice našich občanů v zahraničí je velmi reálné. Ve světě vznikají epidemie většinou ve špatně proočkovaných populacích i v zemích, kde již podobně jako u nás dětskou obrnu neznali, a to jako přímý důsledek zhroucení očkovacích programů. Epidemie proběhly v nedávné minulosti v Albánii, Rusku, Tádžikistánu, Uzbekistánu nebo Ázerbájdžánu. Očkování musí být všechny děti povinné, s výjimkou těch, u kterých jsou prokázány různé překážky nedovolující očkování.

Základní očkování se provede v době od započatého devátého týdne po narození dítěte třemi dávkami hexavakcíny proti záškrtu, tetanu, pertusi s acelulární složkou, invazivnímu onemocnění vyvolanému původcem *Haemophilus influenzae b*, virové hepatitidě B a **inaktivovanou očkovací látkou proti přenosné dětské obrně** (dále jen „hexavalentní očkovací látka“) v průběhu prvního roku života dítěte, podanými v intervalech nejméně jednoho měsíce mezi dávkami, a čtvrtou dávkou podanou nejméně šest měsíců po podání třetí dávky. Čtvrtá dávka hexavalentní očkovací látky se podá nejpozději před dovršením osmnáctého měsíce věku dítěte. U dětí očkovaných proti tuberkulóze se základní očkování hexavalentní očkovací látkou provede od započatého třináctého týdne po narození dítěte, vždy však po zhojení postvakcinační reakce po očkování proti tuberkulóze.

Přeočkování proti záškrtu, tetanu a dávivému kašli s acelulární pertusovou složkou spolu s aplikací páté dávky inaktivované očkovací látky proti přenosné dětské obrně se provede od dovršení desátého do dovršení jedenáctého roku věku dítěte. **Za úplné očkování proti přenosné dětské obrně se považuje aplikace pěti dávek očkovací látky.**



Obrázek 63 Poliomyelitis

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Očkování proti záškrtu, tetanu a dávivému kašli

Záškrť

Záškrť vyvolává mikrob *Corynebacterium diphtheriae*, zdrojem nákazy je nemocný člověk, rekonvalescent nebo bacilonosič toxického kmene. Nemoc se přenáší přímo vzdušnou cestou, méně nepřímou kontaminovanými předměty. Vstupní branou jsou nejčastěji mandle, vzácně sliznice nosní, sliznice hrtanu, spojivky, kůže. Inkubační doba trvá 2–5 dnů a podle místa, kde se zánětlivý proces rozvíjí, může vzniknout záškrť mandlí (*diphtheria tonsillarum*), nosu, (*diphtheria nasi*), hrtanu (*diphtheria laryngis*, croup). Nemoc začíná jako angína zvýšením teploty, bolestmi v krku, nechutenstvím, malátností. Mandle jsou zduřelé, zarudlé

a tvoří se na nich žlutobílé pablány. Současně zduřují i podčelistní mízní uzliny jako u jiných angín. Povlaky se šíří po celých mandlích a začnou přerůstat do okolí na sliznici měkkého patra, oblouků patrových, čípku. Jakmile povlaky přerostou z mandlí do okolí, zhorší se stav nemocného. Teplota se zvýší na 39–40 °C, nemocný je těžce schvácený, dýchá otevřenými ústy, podčelistní uzliny se zvětšují do velikosti ořechu a vzniká kolem nich otok podkožního vaziva. Krk zduřuje a má stejný obvod jako hlava. Otok krku označujeme jako caesarský krk (collum Caesari).

Zhoubný záškrť je vždy provázen komplikacemi a ty mohou vést k smrti. Pravidelně vzniká zánět srdečního svalu (myocarditis) a pozáškrťové obrny. Už v prvních dnech nemoci vzniká obrna měkkého patra, nemocný mluví huhňavě, při napití mu vytékají tekutiny nosem zpět do hrnečku. Ve 4. - 6. týdnu se obrna měkkého patra ještě zhoršuje a podle těžkosti průběhu přistupují ještě další obrny. V lehčích případech se přidá obrna akomodačních svalů, takže nemocný nevidí na čtení, v těžších jsou postiženy svaly dolních končetin, trupu, horních končetin.



Obrázek 64 Záškrť

Zdroj: <http://www.wikimedia.org>

Tetanus

Tetanus (strnutí šíje) je nebezpečné onemocnění způsobované bakterií *Clostridium tetani*, která je běžně přítomna ve stolici koní, skotu a člověka. Do půdy se dostává s výkaly, kde jsou spory schopny přežít i několik let. Při poranění dojde pak snadno ke kontaminaci (hřebík, tříška, hlína). Mikrob produkuje v anaerobním prostředí neurotoxin, nemoc se projevuje křečemi a ztrátou koordinace svalových pohybů, která je způsobena tím, že toxiny produkované bakteriemi blokují uvolňování svalového stahu. Bez lékařské pomoci (antibiotika, sérum) končí zpravidla smrtí v důsledku zástavy srdce nebo kolapsu dýchacího systému (křeč mezižeberních a dalších svalů znemožní dýchání). Inkubační doba tetanu se pohybuje mezi 3 a 21 dny. Obecně platí, že čím dál je místo zranění od CNS, tím delší je inkubační doba. Čím kratší je inkubační doba, tím vyšší je riziko úmrtí. Při novorozeneckém tetanu se symptomy obvykle objevují mezi 4-14 dny po narození, s průměrem kolem 7 dnů.

Místní tetanus (lokalizovaný) je málo častá forma onemocnění, při které mají pacienti trvalý stah svalů ve stejné anatomické oblasti, v jaké se nachází zranění. Stahy mohou přetrvat

mnoho týdnů, než postupně odezní. Místní tetanus je mírnější, pouze kolem 1 % případů je smrtelných.

Generalizovaný tetanus je nejčastější typ tetanu, který představuje kolem 80 % případů. Generalizovaná forma se obvykle vyznačuje sestupujícím průběhem. Prvními příznaky jsou obvykle trismus, neboli čelistní kontraktura a obličejové křeče zvané risus sardonius následované strnulostí šíje, obtížemi při polykání a ztuhlostí břišních a lýtkových svalů. Ostatní symptomy zahrnují zvýšenou teplotu, pocení, zvýšený krevní tlak a občasné zrychlený tep. Často se objevují křeče, které trvají několik minut a tělo je při nich prohnuto do charakteristické podoby napjatého luku (opisthotonus). Křeče se vrací a úplné uzdravení může trvat měsíce.

Mateřský tetanus je forma generalizovaného tetanu, který se vyskytuje u novorozenců v rozvojových zemích. Zpravidla dojde k infekci nezahojené pupeční jizvy.



Obrázek 65 Opisthotonus u generalizovaného tetanu

Zdroj: <http://www.wikimedia.org>.

Hladinu tetanického toxoidu lze v séru stanovit. Koncentrace toxoidu jsou v souladu se standardy WHO a jsou vyjadřovány v mezinárodních jednotkách IU/ml. Obsah protilátek Gig proti tetanovému toxoidu > 0,1 IU/ml je uváděn jako bezpečná imunitní ochrana. Koncentrace protilátek proti tetanovému toxoidu > 0,5 IU/ml je popisována jako dostačující ochranná hladina. Nákaza podléhá povinnému hlášení.

Doporučení očkování proti tetanu

IU/ml	ochrana	doporučené očkování
< 0,03	žádná	základní imunizace
0,03-0,1	není bezpečně zajištěna	obnovovací očkování
0,1-0,5	existuje	obnovovací očkování
0,5-1,0	dostačující	kontrola za 2 roky
1,1 -5,0	dlouhodobá	kontrola za 5-10 let
> 5,0	velmi vysoká	kontrola za 10 let

Pertuse

Černý nebo **dávivý kašel** je obvykle velmi závažně probíhající onemocnění, které postihuje dýchací cesty. Charakterizované je záchvatovitým dráždivým kašlem, často se zvracením. Nejčastější komplikací bývá zápal plic, může dojít i k poškození mozku

z nedostatku kyslíku. Infekci vyvolává bakterie *Bordetella pertussis*, resp. *Bordetella parapertussis*. V minulosti u nás býval dávivý kašel velmi častou infekcí postihující především děti předškolního věku. Onemocnění bylo diagnostikováno ročně až u několika desítek tisíc dětí a mnoho z nich umíralo. Díky vakcinaci se v České republice vyskytuje několik desítek případů ročně, i když v posledních letech přibývá výskyt tohoto onemocnění i u nás. Klasické onemocnění se může objevit hlavně u kojenců, kde zdrojem infekce bývají starší sourozenci nebo matka. Infekce probíhá u nich pod obrazem kataru dýchacích cest. Školní děti onemocní většinou parapertusí a průběh je mírnější. Inkubační doba je 7-14 dní. Nemoc začíná katarálním stadiem s kašlem, které po několika dnech přechází do paroxysmálního stadia. Záchvat kašle u nejmenších kojenců může však končit apnoí, u batolat a větších dětí zvracením.

Pertusoidní syndrom je onemocnění připomínající svým průběhem černý kašel, pro klinický obraz není typický kašel se zájknutím a spazmy. V etiologii syndromu se objevují agens jako je např. *Mycoplasma pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae b*.

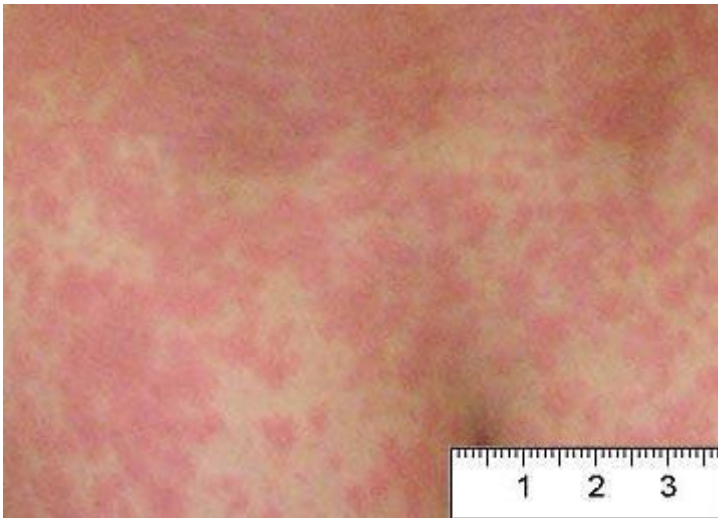
Je třeba připomenout, že přibývá případů zavlečených ze zemí, kde se očkuje méně důsledně než u nás. Všechny děti musí být podle aktuálního očkovacího kalendáře očkovány, pokud není prokázána trvalá zdravotní překážka vakcinace. Vakcinace je zahájena ve 4. měsíci života dítěte (od 13. týdne) první dávkou vakcíny a následují další tři dávky v 5., 6. a pak v 11.-18. měsíci věku. Očkuje se vakcínou Infanrix hexa – kombinovaná vakcína (záškrť, tetanus, černý kašel, dětská obrna, hepatitida B, *Haemophilus influenzae b*). Přeočkování se provádí jednou dávkou ve věku 5 let, později pak další dávka v 10. - 11. roce věku. Používá se acelulární vakcína, která obsahuje novou složku proti černému kašli. Měl by se tak minimalizovat vznik nežádoucích reakcí. Vakcína se podává injekčně, nejlépe do zevní horní části hýžděového svalu. Výsledkem je pak dlouhodobá imunita proti záškrťu, černému kašli a tetanu. Výskyt alergických reakcí s otoky, bolestmi hlavy, oběhové selhání a horečky jsou spíše vzácností. V současnosti by se již neměly žádné takové reakce objevovat vzhledem k novějšímu typu složky proti černému kašli.

Očkování proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám

Spalničky

Spalničky – morbilli jsou vysoce nakažlivé virové onemocnění. Většinou se jedná o velmi vysoký výskyt v epidemiích (v zemích, kde nejsou dobře nebo i vůbec organizovány očkovací programy). Spalničky je onemocnění menších dětí s častými komplikacemi. K onemocnění dýchacího ústrojí dochází v 5-10% případů, jedná se hlavně o zánět hrtanu, průdušnice a plic. Výjimkou není ani zánět středního ucha a průjmy. K vzácným, ale velmi závažným komplikacím patří encefalitida subakutní sklerotizující panencefalitida. Před zavedením povinného očkování, koncem šedesátých let, se v České republice vyskytovalo ročně až 80 tisíc případů onemocnění a tisíce vážných komplikací včetně úmrtí dětí. U nás se v současnosti spalničky nevyskytují (pouze zavlečené případy ze zahraničí), ale často onemocní i dospělí jedinci. Pokud by se ale v naší populaci nahromadily neočkované, a tedy vůči nákaze vnímavé děti, velice rychle by se opět rozšířily. Prodělané onemocnění zanechává celoživotní imunitu. Spalničky jsou charakterizované dvěma klinickými stádii – prodromální stádium (katarální) a exantémové stádium. Prodromální stádium začíná horečkou, rýmou, kašlem a zánětem spojivek. Asi 4. den se na ústní sliznici, na její bukalní straně, objevují žlutobělavé skvrny, tzv. Koplikovy skvrny. Posléze se rozvíjí exantémové stádium, kdy klinicky dochází opět k vzestupu tělesné teploty s výsevem sytě červeného makulopapulózního exantému - začíná za ušima, pokračuje na krku a dále na celé tělo. Exantém má tendenci ke splývání a může mít i hemoragický charakter. Poté pomalu vymizí a přetrvávají pigmentace. Nejčastějšími komplikacemi jsou bakteriální záněty vedlejších dutin

nosních, záněty středouší a vzácnější bakteriální nebo primární spalničková pneumonie. Infekce probíhající v těhotenství neohrožuje plod.



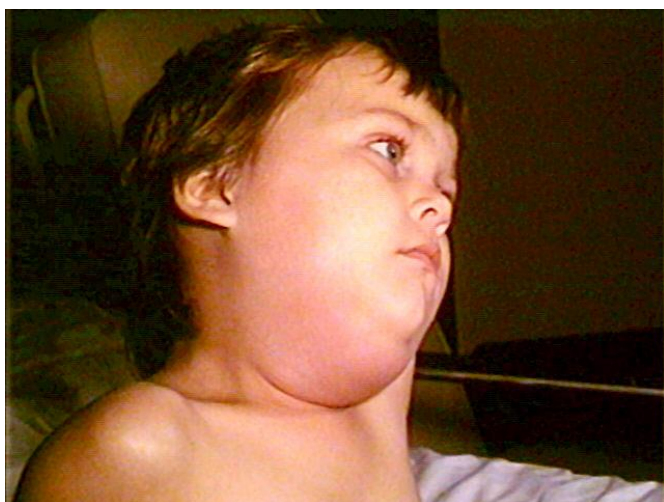
Obrázek 66 Exantém u spalniček

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Klinický nález je potřeba vždy ověřit sérologicky – detekcí IgM a IgG protilátek.

Příušnice

Příušnice – parotitida patří k nemocem, které postihují zejména dětský věk, ale v posledních letech se setkáváme i u dospělých s tímto onemocněním stále častěji. Pokud bychom neočkovali, tak by docházelo v naší populaci k pravidelným epidemiím. Ke komplikacím příušnic patří zánět mozkových blan, zánět mužských pohlavních orgánů – orchitis a jednostranná hluchota. Infekci vyvolává paramyxovirus a postihuje především slinné žlázy a nervový systém. Infekce se šíří vzdušnou cestou, zdrojem nákazy je nemocný člověk a inkubační doba je 14-25 dnů. Nemoc začíná obvykle teplotami, únavou a zduřením jedné nebo více slinných žláz - příušní, podjazykové a podčelistní. Klinicky se projevuje také serózní meningitida a pankreatitida, která má zpravidla mírný průběh. Mezi vzácnější komplikace patří mastitida, oophoritida, thyreoiditida, perikarditida, neuritida nebo nefritida. Diagnostika se opírá o klinický nález, epidemiologickou anamnézu a sérologický nález včetně vyšetření a porovnání párových sér – detekce protilátek ve třídě IgM a IgG.



Obrázek 67 Příušnice

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Zarděnky

Zarděnky – rubeola jsou exantémovým onemocněním dětského věku, jehož původcem je virus šířící se vzdušnou cestou. Za zdroj nákazy považujeme nemocného. Vylučuje virus již ve druhé polovině inkubační doby až 7 dnů po vzniku vyrážky. V intervalu od 12 do 23 dnů inkubace a po netypickém kataru horních cest dýchacích se objeví na obličeji nesplývající drobně skvrnitý exantém. Postupně se rozšiřuje na trup a proximální části končetin. Zduření šijových, retroaurikulárních a týlních uzlin předchází exantematickému výsevu. Leukopenie a plasmocytóza je zaznamenána v krevním obrazu. Kromě klinického nálezu a anamnestických údajů diagnózu potvrzuje sérologický nález – detekce protilátek ve třídě IgM a IgG a při sporných výsledcích příp. avidita IgG protilátek. Velmi pečlivě sledujeme nastávající maminky, pokud přišly do kontaktu se zarděnkami, a to i v tom případě, že absolvovaly vakcinaci. Při potvrzení infekce v I. trimestru gravidity velmi uvážene zvažujeme přerušení gravidity. V tomto období ontogeneze – kdy se vyvíjejí orgány, je plod velmi citlivý ke všem vlivům včetně infekcí. Virus zarděnek způsobuje vážné poškození plodu v I. trimestru gravidity (zasazen je mozek, oko a srdce). K dalším následkům patří hluchota nebo mentální retardace, která se projeví teprve v průběhu předškolního věku. Zdrojem přenosu nákazy může být i dítě s vrozeným zarděnkovým syndromem - vylučování viru u dítěte může probíhat řadu měsíců až let močí a nosohltanem.

Všechny děti obou pohlaví jsou povinně očkovány, vyjímaje těch, kde je prokázána trvalá zdravotní překážka. Účelem vakcinace je zamezit cirkulaci viru v populaci. Děti očkujeme od prvního dne 15. měsíce věku. Dříve se do vakcinace proti zarděnkám nepouštíme, protože u dítěte by mohly cirkulovat mateřské protilátky a vakcinace by nemusela být úspěšná. Druhá dávka se podává v období od 21. do 25. měsíce věku. Používáme vakcínu Priorix - je to živá oslabená vakcína a podává se v dávce 0,5 ml subkutánně (pod kůži), případně intramuskulárně (do svalu). Výsledkem je dlouhodobá imunita proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám. Po vakcinaci nastává zpravidla obvyklá fyziologická reakce, kdy je vlastně napodoben průběh onemocnění spalničkami (teplota, lehký zánět spojivek a nosohltanu nebo i exantém). Ke skutečně nežádoucím účinkům patří otok zasahující příušní žlázu a velmi vzácné jsou záněty průdušek a plic.



Obrázek 68 Zarděnky

Zdroj: <http://www.wikiskripta.eu>

Pravidelné očkování proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím

Základní očkování se provede živou očkovací látkou, a to nejdříve první den patnáctého měsíce po narození dítěte. Přeočkování se provede za 6 až 10 měsíců po provedeném základním očkování, v odůvodněných případech i později s tím, že horní věková hranice pro podání očkovací látky není omezena.

Očkování proti virové hepatitidě typu B

Tato vakcína je součástí hexavakcíny – Infanrix hexa a podává se dětem ve 4., 5., 6. a v rozmezí 11. - 18. měsíce věku podle očkovacího kalendáře. Zdrojem nákazy je člověk s akutní nebo chronickou hepatitidou B. Infekce se přenáší parenterální cestou a tělními tekutinami. Nákaza se projevuje jako akutní infekce, chronická infekce nebo asymptomatické nosičství viru hepatitidy B a jedná se o virový zánět jater. Kromě klinických příznaků, které na začátku mohou vypadat jako chřipka nebo viróza, je nutné k potvrzení diagnózy též sérologický nález – pozitivita u markeru HBsAg, anti – HbC IgM a markeru HBeAg (akutní fáze). Pro chronickou hepatitidu B a nosičství svědčí pozitivní sérologický nález – HBsAg, anti-HBc total a anti-HBe. K pasivní imunizaci můžeme podat specifický imunoglobulin do 7. dne po nákaze. Proti hepatitidě B se nejpozději do 24 hodin po narození dítěte očkují novorozenci HBsAg pozitivních matek jednou dávkou očkovací látky proti virové hepatitidě B. V očkování těchto dětí se dále pokračuje od šestého týdne po narození dítěte podle souhrnu údajů o přípravku hexavalentní očkovací látky. Dále jsou proti VHB v rámci pravidelného očkování očkovány osoby při rizikové expozici biologickému materiálu, osoby, které mají být zařazeny do pravidelných dialyzačních programů nebo osoby nově přijaté do domovů pro osoby se zdravotním postižením nebo do domovů se zvláštním režimem. Očkování se neprovede, pokud fyzická osoba byla očkována nebo pokud hladina antiHBs protilátek bude po ověření stavu imunity vyšší než 10 IU/litr.

Očkování se proti VHB se v rámci zvláštního očkování provádí u fyzických osob pracujících na pracovištích se zvýšených rizikem nákazy VHB. Jedná se o osoby činné při vyšetřování a ošetřování fyzických osob, při manipulaci se specifickým odpadem ze zdravotnických zařízení a u osob činných v nízkoprahových programech pro uživatele drog, u studujících lékařských fakult, středních, vyšších a vysokých zdravotnických a sociálních škol a dalších

osob dle vyhlášky 537/2006 Sb. o očkování proti infekčním nemocem ve znění pozdějších předpisů.

Vakcinaci doporučujeme také cestovatelům opakovaně vyjíždějícím do oblastí s vysokou prevalencí nákazy. Základní očkování sestává ze tří dávek aplikovaných v intervalu 1 až 5 měsíců. Ukazatelem úspěšnosti vakcinace je marker anti-HBs protilátek v séru. K dispozici je i kombinovaná vakcína proti hepatitidě A a hepatitidě B – Twinrix. Protektivní protilátky chrání jedince před nákazou přibližně 10 let. Osoby podezřelé z nákazy podléhají po dobu 180 dnů zdravotnímu doзору. Vakcíny jsou velmi dobře snášeny, u malého procenta očkovaných může dojít k nežádoucím účinkům jako je bolestivost a otok v místě vpichu, únava, horečka, nevolnost. Kompletní panel markerů hepatitidy B je součástí každého předoperačního vyšetření u pacientů.

Očkování proti onemocnění vyvolanému bakterií *Haemophilus influenzae b*

Tato vakcína je součástí hexavakcíny Infanrix hexa a aplikuje se podle aktuálního očkovacího kalendáře. *Haemophilus influenzae b* je gramnegativní drobná tyčka, která vyvolává u malých dětí časté záněty horních cest dýchacích a vedlejších dutin nosních. Považuje se za součást běžné orofaryngeální flóry. Většinou nasedá hemofilová infekce na primární virovou infekci jako sekundární superinfekce. U některých jedinců může způsobit meningitidy, v případě, že se dostane do krve. Vzácně dochází k zánětům kloubů, srdce. Nejtěžší průběh mají infekce u neočkovaných dětí do 3 let věku a dětí imunologicky oslabených v jakémkoliv věku.

Zvláštním očkováním označujeme to očkování, které je povinné u osob vystavených zvýšenému nebezpečí nákazy určitou infekcí. Je to např. **očkování či přeočkování proti TBC**, vždy podle výsledku tuberkulinové zkoušky (zaměstnanci na odd. TBC a respiračních nemocí, patologie, soudního lékařství, mikrobiologie, zaměstnanci veterinárních zařízení). Preventivně se dále očkují proti **vzteklině** osoby působící v laboratořích, kde se pracuje s virem vztekliny. Vakcína obsahuje usmrcený virus vztekliny a podává se ve čtyřech dávkách do svalu 1 ml 0. den, 3. den, 7. den a 14 den.

Mimořádné očkování se provádí u určitých vybraných skupin populace a je nařizováno hlavním hygienikem ČR v období mimořádných epidemiologických podmínek. Patří sem každoroční očkování proti chřipce, které je cílené u vytipovaných skupin populace nebo u vybraných věkových skupin v určitých oblastech, proti meningokokové infekci, případně očkování proti virové hepatitidě A např. při záplavách.

Očkování proti chřipce

Chřipka je velmi častá a rychle se šířící virová infekce. Každoročně postihuje celosvětově sta tisíce lidí v jednotlivých zemích. Onemocnění je charakterizované vysokou horečkou, bolestmi ve svalech a kloubech, pocitem slabosti a malátnosti. U některých postižených může dojít ke komplikacím typu pneumonie, postižení nervových tkání nebo k postižení srdečního svalu, dále poškození sluchu, čichu. Nejvíce jsou chřipkou ohroženy chronicky nemocné osoby a osoby vysokého věku. Očkují se bezplatně osoby zdravotně oslabené – s chronickým onemocněním dýchacích cest, srdce a cév, ledvin nebo diabetem - dospělí i děti. Vakcinace se zahajuje od začátku října obvykle do konce listopadu a v České republice je k dispozici řada vakcín, např. Vaxigrip a Influvac. Obsahují imunologicky aktivní části chřipkových virů vždy epidemiologicky aktuálních kmenů virů chřipky. Vakcína se aplikuje injekčně do svalu nebo pod kůži v jedné dávce a chrání nejdéle 6 měsíců. Vzhledem k tomu, že se každým rokem mění cirkulující kmeny chřipky, vakcína se připravuje každoročně právě podle aktuální epidemiologické situace a podle doporučení WHO. Je potřeba ji aplikovat každý rok znovu. Výsledkem je dočasná imunita proti chřipce, vakcína chrání především proti

sezónní chřipce. Riziko očkování je minimální, může se objevit bolest v místě vpichu, bolest hlavy, svalů a kloubů, ale tyto příznaky posléze odezní a s průběhem opravdové chřipky jsou tyto obtíže zanedbatelné. Odborníci doporučují, aby u nás byly očkovány pravidelně každoročně všechny rizikové skupiny – chronicky nemocní, lidé ve věku nad 65 let, zdravotníci, zaměstnanci ve školství atd., což by vedlo ke snížení výskytu této nemoci v populaci.

Očkování proti meningokokovému zánětu mozkových blan

Jedním z velmi vážných a život ohrožujících onemocnění je hnisavá bakteriální meningitida vyvolaná bakterií *Neisseria meningitidis* A, B, C a dalšími typy. K nákaze meningokokem dochází u velmi vnímavých jedinců. *Neisseria meningitidis* osídluje sliznice nosohltanu řady lidí v populaci a nedojde u nich k rozvoji infekce, stávají se však nosiči a respirační cestou dochází k přenosu nákazy na vnímavé jedince. Pro okolí a zvláště vnímavé jedince to znamená velké riziko, záleží ale na stavu imunitního systému. Infekce se šíří z nosohltanu do krve a může pak přestoupit na mozkové obaly a může zanechávat trvalé následky. Na kůži se může vytvořit výsev červených skvrnek, někdy také v podobě malých modřin, které neustále přibývají. Vytváří se klinický obraz sepse. Někdy probíhá meningokoková infekce jako purulentní meningitida, kterou může doprovázet zvracení, případně poruchy vědomí nebo křeče. Kožní příznaky meningokokového zánětu mozkových blan se nemusejí vždy objevit. Nejtěžší formou onemocnění je prudce probíhající sepsa, která velmi brzy přechází do septického šoku se selháním životně důležitých orgánů, a to především plic a ledvin. Tato prudká sepsa, která končí téměř vždy smrtí, bývá naštěstí vzácná. Pokud je infekce včas rozpoznána a diagnostikována, má postižený velkou šanci na přežití i uzdravení bez trvalých následků. Ohroženi jsou branci, osoby cestující do oblastí s vysokým výskytem tohoto onemocnění, děti od předškolního věku do 18-20 let. Vakcína obsahuje usmrcené meningokoky typu A+C (Meningococcal polysaccharide A+C vaccine) a aplikuje se v jedné dávce 0,5 ml injekčně do svalu nebo hluboko pod kůži. Výsledkem je dočasná imunita proti meningokokové meningitidě vyvolané meningokoky typu A a C přetrvávající maximálně 3 roky. Co se týče rizik, vakcína je velmi dobře snášena a riziko nežádoucích účinků je minimální. Očkování patří mezi nadstandardní očkování na vlastní žádost.

Očkování proti virové hepatitidě typu A

Virus hepatitidy A se přenáší orálně – fekální cestou, říká se, že je to „nemoc špinavých rukou“, neboť se infekce vyskytuje tam, kde je zhoršená hygiena. Virus je značně odolný na vnější vlivy, vylučuje se stolicí už 2 týdny před vznikem příznaků a ještě asi týden po skončení, nemocný je nejvíce nakažlivý před koncem inkubace. Inkubační doba je 15–50 dnů, pak nastupuje prodromální („preikterické“) stadium (dyspepsie, únava, teplota, ztráta hmotnosti) a stadium symptomatické („ikterické“), kdy vedoucím příznakem je ikterus, dále tmavá moč, světlá stolice. Průběh je mírnější a kratší než u VHB, VHA nevyvolává chronické infekce. U dětí a mladých lidí probíhá téměř bez příznaků, u osob nad 40 let obvykle probíhá závažněji. Nejčastěji se nakazí osoby cestující do zemí s nižším hygienickým standardem, narkomané, obyvatelé sociálních ústavů apod. V současnosti není v ČR hepatitida typu A příliš rozšířená. Cílená vakcinace vychází vždy z analýzy epidemiologické situace a je podmíněna rozhodnutím epidemiologa. Vytipované jsou pro vakcinaci ohrožené skupiny populace – osoby, které cestují do rizikových oblastí a pak se vakcinace provádí na individuální žádost osob. Očkujeme vakcínou Havrix – obsahuje usmrcený virus hepatitidy A – varianta pro děti a pro dospělé anebo je k dispozici kombinovaná vakcína proti VHA a VHB – Twinrix. Výsledkem je imunita trávající po dokončeném kompletním očkování – aplikují se

2-3 dávky podle typu vakcíny, přibližně 10 let. Výskyt nežádoucích účinků je minimální a i děti snášejí tuto vakcínu velmi dobře.

Zvláštní očkování proti virové hepatitidě A a virové hepatitidě B se provádí u zaměstnanců a příslušníků základních složek Integrovaného záchranného systému.

Očkování osob v souvislosti s jejich pobytem v zahraničí je velmi důležité a řídí se danou epidemiologickou situací v příslušné oblasti na základě informací WHO. Vakcinace se provádí vždy na žádost cestovatelů po předchozí konzultaci s odborníkem. Posuzuje se vždy riziko nákazy, délka pobytu, typ cesty, věk osoby, její zdravotní stav. Konzultace poskytují a očkování provádějí očkovací střediska a centra cestovní medicíny. Patří sem očkování proti hepatitidě typu A, B, proti břišnímu tyfu, žluté zimnici, japonské encefalitidě a meningokokové meningitidě. Je potřeba kromě těchto očkování ověřit platnost očkování proti tetanu a po uvážení i přeočkování proti poliomyelitidě.

Očkování proti břišnímu tyfu

Očkování se doporučuje u osob vyjíždějících do zemí jihovýchodní Asie, do oblastí Indie, Afriky a Jižní Ameriky. Aplikuje se buď neživá polysacharidová vakcína, nebo živá vakcína. Výsledkem je dočasná imunita proti břišnímu tyfu, která přetrvává cca 3 roky. Vakcíny jsou snášeny velmi dobře.

Očkování proti japonské encefalitidě

Tato infekce je přenášena komáry, je to virové infekční onemocnění postihující mozek a mozkové blány. Důsledkem nemoci může být ochrnutí nebo smrt. Infekce se vyskytuje v jihovýchodní Asii od Indie až po Japonsko. Očkuje se vakcínou obsahující usmrcený virus. Vakcína se aplikuje ve třech dávkách, přeočkování se doporučuje po 4 letech. Výsledkem je dočasná imunita proti japonské encefalitidě.

Očkování proti žluté zimnici

Charakteristické pro žlutou zimnici jsou horečka, bolesti hlavy, někdy i krvácení do sliznice. Je to těžké akutní onemocnění postihující cestovatele. Virus se přenáší komáry. Oblastmi přírodního výskytu jsou hlavně subsaharská oblast Afriky a pralesy Jižní, částečně střední Ameriky. Aplikuje se vakcína obsahující nepatrné množství živého oslabeného viru žluté zimnice. Výsledkem je dlouhodobá imunita proti žluté zimnici.

Očkování proti choleře

Cholera je velmi závažná choroba způsobená bakterií *Vibrio cholerae*, která se přenáší kontaminovanými potravinami nebo vodou a způsobuje těžký průjem. Vakcína proti choleře Dukoral je připravená ve formě nápoje, děti od 6 let a dospělí dostávají 2 dávky s intervalem minimálně týden, posilovací dávka se podává do 2 let od absolvovaného očkování.

Očkování proti vzteklině

Preventivně jsou očkovány osoby v profesionálním riziku nákazy, dále se očkují osoby poraněné zvířetem, u něhož byla prokázána **vzteklina**. V současnosti je dostupných v České republice několik druhů vakcín, všechny obsahují usmrcené viry. Aplikují se injekčně pod kůži ve více dávkových schématech. Výsledkem je dočasná imunita proti vzteklině. Riziko nežádoucích účinků je minimální i s ohledem na smrtelný průběh infekce. V současnosti je Česká republika vyhlášena jako Lyssa free area, avšak riziko přeshraničního zavlečení nákazy trvá.

12.3 Pasivní imunizace

Pasivní imunizace znamená aplikaci již hotových protilátek do organismu. Využíváme imunoglobuliny nebo imunní séra co nejdříve po expozici.

Nejčastěji podáváme lidský hyperimunní gamaglobulin k ochraně osob exponovaných virové hepatitidě A, virové hepatitidě B, v prevenci klíšťové encefalitidy, hyperimunní globuliny s vyšším obsahem protilátek proti tetanu a vzteklině.

13 Bioterorismus

Biologické zbraně patří nepochybně mezi zbraně hromadného ničení, jsou to zbraně způsobující hromadné ztráty, protože neovlivňují neživou sílu. V budoucnosti však není vyloučena změna této definice v souvislosti s vývojem mikroorganismů a jejich působení např. i na neživé předměty, třeba zbraně. Biologické zbraně jsou velmi unikátní, co se týče různorodosti a z ekonomického hlediska jsou také levnější. Pro výrobu biologických zbraní můžeme použít řadu různých mikroorganismů a každý z nich může mít různý efekt. Rozdíly finálního efektu původců infekčních onemocnění jsou dány jejich genetickou výbavou, antigenní výbavou, morfologií, anatomií a fyziologií, jejich virulencí, vztahem k lidskému organismu a k zevnímu prostředí. Biologické zbraně dělíme podle původců infekcí na bakteriální, virové, rickettsiové, mykotické a toxinové. Je obecně známo, že virové infekce nelze léčit antibiotiky, většinu bakteriálních, plísňových a rickettsiových infekcí lze velmi úspěšně léčit antibiotiky. Biologické zbraně, které využívají ke svému účinku většinou bakteriálních toxinů, mají charakter chemických zbraní. Patří k nim mikrobiální toxiny, fytotoxiny a zootoxiny. Z mikrobiálních toxinů jsou kandidáty např. botulotoxin nebo stafylokokový toxin.

Historie biologických zbraní sahá až do neolitu, kdy původní jihoamerické kmeny obyvatel používaly kurare nebo toxiny obojživelníků k otrávení hrotů šípů a ke zneškodnění svých protivníků i zvířat. V období rozkvětu a slávy Římského císařství římsští vojáci používali katapult k vrhání mrtvých lidských nebo zvířecích těl do obsazených míst. Asyřani v 6. století př. n. l. otrávil prameny nepřítele pomocí námelu. Během námořní bitvy v roce 184 př. n. l. proti králi Eumenesovi z Pergamonu Hannibalovy jednotky vrhaly na protivníka nádoby s jedovatými hady. Během první světové války byli Němci obviněni z rozšiřování cholery v Itálii a moru v Rusku v Sankt Petěrburgu. Dále si připomeňme, že v roce 1942 USA zahájily výzkum biologických zbraní. V roce 1947 Sovětský svaz tajně začal budovat závod pro výrobu biologických zbraní ve Sverdlovsku. V padesátých a šedesátých letech minulého století pokračuje americký biologický útočný program v Marylandu. Škála produkovaných původců je zajímavá – jsou to virová agens, původce Q-horečky *Coxiella burnetii*, dále se jedná o program rozmnožování komárů určených k šíření malárie a horečky Dengue, blech přenášejších mor, množení původců cholery, antraxu a dyzentérie a v neposlední řadě se jednalo o rozmnožování klíšťat nakažených tularémií. V roce 1985–1989 Ken Alibek (Kanatjan Alibekov) vytváří v Sovětském svazu Alibekův antrax, jedná se o válečně využitelný kmen, v roce 1988 výzkumník v laboratořích Vektor v Kolcovu v Sovětském svazu se při práci s virem Marburg poranil a zaplatil vlastním životem za vývoj varianty U viru Marburg – je to jedna z nejučinnějších biologických zbraní. Sekta Óm šinrikjó v Japonsku se v roce 1990–1995 snažila tzv. „nastolit nový světský pořádek“ likvidací starého světa zbraněmi hromadného ničení. Sekta získala mikroorganismus *Clostridium botulinum* a snažili se ho ve svých laboratořích namnožit k získání jednoho z nejedovatějších toxinů. Vyzkoušeli i nového původce – antrax z místní univerzity v Tokiu. Antrax se pokusili rozšířit v Tokiu formou aerosolu. Poté se vrátili k botulotoxinu, ale opět bez úspěchu.

Teroristický útok na Pentagon a Světové obchodní centrum v New Yorku 11. září 2001 byl událostí, která spustila celosvětovou vlnu spíše psychologického teroru než reálného biologického nebezpečí. Týden po tomto útoku byl zaslán dopis do televizní stanice NBC, který obsahoval spory antraxu. Velmi reálnou možností je také použití obávaného viru neštovic pro biologickou zbraň.

Mikroorganismy jako bojové prostředky.

Hlavní vlastností biologické zbraně je způsobování strachu v napadené populaci. Včasná diagnóza je obtížná a předpokládá se rychlý začátek epidemie až pandemie.

V popředí jsou vysoká závažnost a vysoká smrtnost. K možným kandidátům z řad mikroorganismů pro výrobu biologických zbraní patří:

Antrax (*Bacillus anthracis*) - inkubace trvá 2 dny až 6-8 týdnů. První příznaky jsou necharakteristické, pneumonie má až 90% smrtnost. Mezilidský přenos je vzácný (u pneumonie nebyl popsán). Vakcinace je možná, ale je spojená s vysokým procentem komplikací. Chemoprophylaxe a terapie je možná, účinný je Ciprofloxacin.

Botulotoxin (*Clostridium botulinum*)

Patří k nejedovatějším známým substancím. Šíří se potravou, přenos vodou popsán nebyl. Počátek není charakteristický - nauzea, zvracení, mírný průjem, pak dominují oční příznaky pokles víček, dvojité vidění, mydriáza. Postupuje-li nemoc dále, dochází k obrně měkkého patra, oslabení svalové síly, poruše mikce, střevní peristaltiky (zácpa) a poruše dýchání. Nemocný je stále při plném vědomí. Je ohrožen ochrnutím dýchacích svalů. Pozdní podání antitoxinu je neúčinné. Vakcinace není zatím dostupná, je ve stádiu experimentu.

Mor (*Yersinia pestis*)

Plicní forma infekce je zpočátku necharakteristická. Inkubační doba trvá 1-2 dny u plicní formy. Mezilidský přenos je možný. Vakcinace prozatím není v České republice možná, vakcína není v ČR registrována. Terapie i chemoprophylaxe je možná.

Neštovice (*Poxvirus variola*) – inkubace je 7-17 dní. Smrtnost je 30%, mezilidský přenos snadný. Vakcinace – plošná byla v Československu ukončena v roce 1978. Vysoký počet závažných komplikací byl popsán v souvislosti s vakcinací. Kauzální léčba k dispozici není.

Tularémie (*Francisella tularensis*) - jedno z nejinfekčnějších agens. Inhalační infekce má 30-60% smrtnost. Vakcinace je možná. Léčba a chemoprophylaxe je také možná.

Dalšími kandidáty jsou původci těchto onemocnění:

- Venezuelská koňská horečka - původce virus Venezuelské koňské encefalitidy
- Žlutá zimnice - původce virus žluté zimnice
- Horečka Rift Valley – původce virus Rift Valley
- Q horečka – původce *Coxiella burnetii*

Podmínky použití mikroorganismu jako bojové zbraně:

1. Výroba musí být snadná (výrobce je v největším riziku).
2. Největší problém je dostat zbraň k cílové skupině.
3. Další mezilidský přenos je nežádoucí.
4. Měla by být možná snadná kontrola infekce po skončení akce.
5. Znalosti a schopnost se s infekcí vyrovnat je nejlepší obrana.

Teroristické použití mikroorganismu:

Cílem teroristického útoku je způsobit strach, upozornit na sebe, poškodit hospodářství. Důležitá je medializace útoku, i malá úspěšnost je však dostatečná. Často nezáleží na bezpečnosti teroristy a nezáleží ani na další kontrole infekce, mezilidský přenos je nepodstatný. Využití mikroorganismu jako bojové zbraně je stále problematické, protože cílem útoku je poškození protivníka a ochrana vlastních lidí. Závěrem je nutné shrnout, že bioterorismus se stal jedním z nejdůležitějších světových problémů současnosti. Důležité je, abychom byli dobře a včas připraveni na takovou situaci.

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

14 Nová infekční onemocnění

Literatura:

KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E. *Microbiology*. 1. vydání. Philadelphia: Harwal Publishing, 1991. ISBN 0-68-06234-4.

VOTAVA, M. a kolektiv. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

Odborná skupina epidemiologie – Zprávy CEM SZÚ. Praha, 2007.

14.1 Nově se objevující viry

V populaci byly některé viry již dříve, ale nebyly poznány. Postupně docházelo k zavlečení nového viru a k jeho adaptaci na nové prostředí - řada zvířecích virů se adaptovala na člověka. Nově se objevující viry (Emerging viruses) představují pro lidstvo v posledních letech velkou hrozbu, kterou nesmíme opomíjet.

Jak vznikají nové infekce? Nové infekce vznikají několika následujícími způsoby:

- šířením virů ze starých ohnisek při změně životního stylu (Ebola, Lassa)
- adaptací zvířecího viru na člověka (HIV)
- vznikem nových mutant (chřipka, SARS)
- vznikem nových ohnisek viru (West Nile)
- reintrodukcí eliminovaného viru (Polio)

K hlavním příčinám šíření nových virů zcela určitě patří následující důvody:

- původně izolované oblasti se stávají přístupné
- většina nových virů pochází z oblasti tropických deštných pralesů
- moderní cestování zrychluje šíření virů
- velké aglomerace usnadňují šíření virů

Nově vzniklé viry mají řadu netypických vlastností a ve vztahu k lidskému organismu vyvolávají závažné infekce.

Hantavirus Sin Nombre

Tento virus se objevil v roce 1993 v Novém Mexiku. Vyvolal horečnaté infekce s respiračním selháním. Virus je příbuzný řadě Hantavirů, nákaza má charakter přírodního ohniska, rezervoárem je zvířátko křečík běloocasý. Mezilidský přenos je možný, cirkulace viru v populaci bez rezervoárového zvířete není možná.

Od té doby se objevilo několik podobných virů s různou symptomatologií, které vyvolávaly pneumonie, kardiomyopatie.

Virus Ebola (Filoviridae)

První epidemie vypukla v roce 1976 (Demokratická republika Kongo, dříve Zair)), od té doby proběhla řada epidemií - 1995 Zair, 2004 Kongo. Pro infekci je typická hemoragická horečka, přenos je popisován úzkým kontaktem (ošetřování nemocných, úprava mrtvých, sexuální styk). Šíření se omezí již základními ochrannými pomůckami.

Rezervoárem jsou opice (zpracování masa ulovených nebo uhynulých opic).

Virus Marburg (Filoviridae)

Poprvé byl virus zaznamenán v roce 1967, byla to epidemie ošetřovatelů opic ve farmaceutické továrně Behring. Popisuje se jako první z hemoragických horeček způsobených čeledí Filoviridae. Infekce se přenáší kontaktem s opicemi nebo pacienty v inkubační době nebo nemocnými. Další záchyt byl v roce 2000 - Kongo, 2005 – Angola.

Viry Lassa, Machupo, Junin (Arenaviridae)

Rezervoárem jsou myšovití hlodavci. Hemoragické horečky způsobené výše uvedenými původci mají vysokou smrtnost. Lassa se poprvé vyskytla v roce 1969 v jižní Africe - smrtnost 10 %.

Hemoragická horečka Machupo byla diagnostikovaná v roce 1963 v Bolívii, horečka Junin v Argentině.

HIV 1 a HIV 2 (Retroviridae)

Je to virus adaptovaný z opic (SIV), nyní je možný jen interhumánní přenos. Cesta přenosu z opic na člověka ale není jasná.

Nipah virus, Hendra virus

Oba viry byly původci zoonóz. Objevovaly se pouze infekce chovatelů, nebyl zjištěn mezilidský přenos. **Nipah** je infekcí chovatelů prasat v Malajsii. **Hendra** se vyskytuje u chovatelů koní v Austrálii.

Virus SARS

Největší epidemický výskyt byl zaznamenán v letech 2002-2003. Začátek nákazy byl pravděpodobně v Číně. Původ etiologického agens je stále nejasný – jedná se o rekombinantní původ nebo zvířecí původ (netopýři). Jedná se o syndrom akutního respiračního selhání (severe/serious acute respiratory syndrome) způsobený koronavirem. Typická je vysoká nakažlivost. K šíření viru dochází respiračním i fekálně-orálním způsobem. Virus byl exportován do řady zemí světa. Přenos viru mimo Asii byl prokázán jen do Kanady. Nedokážeme odhadnout další osud viru. V posledních 2 letech se neobjevil žádný případ u člověka.

Virus West Nile

Virus West Nile je typický příklad viru, který se rozšířil mimo původní hranice.



Považujeme ho za původce lehkých i těžších meningoencefalitid - charakteristický je těžší průběh nemoci v novém terénu. Rezervoárem jsou ptáci, vektorem je komár (Culex). Prokázána byla celoroční perzistence viru v USA a Kanadě. Biotop viru se rozšiřuje.

Monkeypox virus

Nově objevenou infekcí je infekce způsobená Monkeypox virem. Epidemie infekce byla v USA v roce 2003. Virus byl importován z Afriky přes obchod s domácími mazlíčky, např. přes Gabunskou krysou. Virus se šířil i přes místní hlodavce (psouny). Problémem v diferenciální diagnostice je odlišení od neštovic.

Řada nových virů nezpůsobuje dramatické infekce.

Metapneumovirus je původce respiračních infekcí od lehkých až po těžké pneumonie. Virus patří mezi paramyxoviry, objeven byl až v roce 2000. Rutinní diagnostika začíná být dostupná v laboratořích. Mnoho tropických virů přenášených členovci způsobuje lehké nebo středně těžké infekce s téměř nulovou smrtností.

Rozšiřování nových infekcí není nové ani typické pro 20. a 21. století, mění se pouze rychlost šíření nových agens a také diagnostické možnosti, mezinárodní spolupráce a úroveň poznání. V posledních letech způsobily epidemie obávaná **ptačí chřipka** a **prasečí chřipka**.

14.2 Možnosti diagnostiky a léčby, prevence

Pandemická varianta chřipky H1 N1

Virus se objevil začátkem roku 2009 v USA a v Mexiku. Tato varianta má RNA lidských i prasečích kmenů. Jedná se o kmen, u kterého jsou prokazatelné sekvence prasečí H1 N1, lidské H1 N1 a H3 N2. Antigen H1N1 nové varianty je odlišný od H1N1 epidemické, imunita **není** zkřížená. Mezilidský přenos je běžný. Průběh infekce i smrtnost je podobná jako u epidemické chřipky.

Rizika pandemie chřipky:

1. velký počet nemocných v krátkém časovém úseku (riziko ochromení zdravotnictví, zásobování, dopravy apod.)
2. finanční náročnost léčby i riziko výpadku hospodářství
3. smrtnost (% úmrtí z infikovaných) 0,5-1 %
4. úmrtnost (počet zemřelých na počet obyvatel) závisí na počtu infikovaných

Prognózy onemocnění:

V současné době se z pandemické varianty H1 N1 stala běžná epidemická varianta. Virus má zatím stále vyšší potenciál invazivity do plicní tkáně, tzn., že vyšší procento pacientů má primární virovou pneumonii. Předpokládá se, že variant vývoje je několik. Epidemie se např. bude vyvíjet jako dosud, virus bude kolovat v dalších letech jako varianta epidemické chřipky nebo v další vlně se průběh zhorší, zvýší se smrtnost (v současné době je tato varianta již málo pravděpodobná). Poslední možností je, že se objeví nová varianta viru, nelze však předpovědět ani kdy, ani jak závažná bude. Jako příklad můžeme uvést virus H1 N1 new variant, který koluje jako epidemický, nahradil H1 N1 Chabarovsk, který tvořil v roce 2010 až 98 % všech infekcí. Společně s ním koluje stále varianta H3 N2 (pouze 2 %). Současné klinické formy H1 N1 jsou o něco mírnější, než byly v roce 2009. Tento kmen se stal součástí vakcíny proti „sezónní“ chřipce. Ptačí kmény s potenciální patogenitou pro člověka jsou následující:

Otázkou zůstává, jestli je stále typ H5 N1 hrozbou. Zkušenosti ukazují, že za téměř 10 let se neprokázal mezilidský přenos, i když je virus rozšířen po celém světě. Objevila se však vysoko patogenní varianta pro zvířata. V této fázi nejde o problém medicínský, ale jedná se o problém veterinární a ekonomický. Varování a epidemiologická bdělost momentálně nejsou zbytečné. Pravděpodobnost mutace stávající H5 N1 je malá, ale může se objevit jiná nebezpečná varianta přenosná na člověka.

Infekce prionové

Jsou to přenosná onemocnění zvířat a lidí, kdy vlastně po dlouhé inkubační době vzniká postupně se zhoršující a smrtelné poškození mozku. Nejdříve dochází k úbytku neuronů a k vaskularizaci šedé hmoty mozkové, která má při mikroskopickém vyšetření houbovitý vzhled. Díky tomuto vzhledu označujeme tyto nemoci jako transmisivní spongioformní encefalopatie. Za etiologické agens se považuje částice prion (PrP) – infekční bílkovina. Jedná se o protein, který je běžně přítomný v membráně nervových a jiných buněk. Protein náhle změní své vlastnosti, stává se odolným vůči buněčným proteázám, hromadí se v nervové buňce v podobě amyloidních fibril a způsobí její zánik. Patogenní formu prionu označujeme PrP^{sc} (prion zjištěný u nemocí ovčí nazvané scrapie neboli klusavka). Patogenní PrP způsobuje změny vlastností prionu i v dalších buňkách a je přenosný na další jedince. Jsou to vesměs infekční agens, která na rozdíl od virů nebo bakterií neobsahují žádnou nukleovou kyselinu a v napadeném organismu nevyvolávají imunitní odpověď. Tento původce je značně odolný na běžné způsoby dezinfekce a sterilizace.

K prionovým chorobám u člověka patří kuru (kanibalové na Nové Guinei), nová varianta morbus Creutzfeldt Jacob a u zvířet je to scrapie (ovce), encefalopatie norků a kočkovitých šelem a od roku 1996 BSE – nemoc šílených krav. Příčinou této rozsáhlé epidemie u skotu v Anglii v devadesátých letech bylo zkrmování masokostní moučky, která byla kontaminovaná priony. V té době bylo krmivo pro skot vyráběno technologickým způsobem, který nevedl k destrukci patogenního prionu.

Jacob Creutzfeldtova nemoc (CJN)

Infekce je způsobená prionem s četností jeden případ na milion obyvatel za rok. Rozlišujeme tři formy onemocnění, a to sporadickou, familiární a iatrogenní.

Nejčastější forma sporadická (asi 85 % případů z celkového počtu případů) vzniká náhodnou mutací genu pro tvorbu prionového proteinu. Přibližně v 15 % se jedná o formu familiární CJN s vrozenou mutací genu kódujícího tvorbu PrP. Jedno procento tvoří iatrogenní formu tohoto onemocnění, která vzniká v souvislosti s přenosem infikované lidské tkáně, např. léčba růstovým hormonem získaným z lidských hypofýz, transplantace tvrdé pleny mozkové nebo rohovky. Nemoc postihuje osoby starší padesát let, projevuje se rychle postupující demencí, mimovolnými pohyby a abnormitami na EEG. Postižený se pak stává neschopným sebeobsluh, je inkontinentní, upadá do bezvědomí a do jednoho roku od nástupu nemoci umírá. Léčba zatím není známa.

V roce 1995 byla popsána nová varianta Jacob Creutzfeldtovy nemoci, která postihuje osoby mladší 40 let. Pro klinický obraz jsou charakteristické poruchy chování, poruchy čítí a rozvoj nemoci je pomalý. Etiologickým agens nemoci je prion velmi podobný prionu nemoci šílených krav. Míní se, že onemocnění je pravděpodobně důsledkem nákazy geneticky vnímavého lidského jedince bovinním prionem po konzumaci infikovaného hovězího masa. K rizikovým tkáním u hovězího masa patří především mozek, pak mícha, kostní dřeň, slezina a distální ileum. Většina případů nemoci byla dosud popsána v Anglii.

Diagnóza se opírá hlavně o klinický nále, o detekci tzv. markerů neuronálního poškození v séru a v likvoru a o vyšetření EEG. Potvrdit však může definitivní diagnózu jedine

morfologické vyšetření mozku spojené s imunohistochemickým průkazem patogenního proteinu. Každý případ onemocnění i suspektní podléhá povinnému hlášení. U nás jsou nemocní soustředěni v Praze v Thomayerově nemocnici na neurologické klinice. V této nemocnici při patologicko-anatomickém oddělení působí Národní referenční laboratoř pro transmisivní encefalopatie. Izolace není nutná vzhledem k tomu, že kontakt s nemocným není spojený s žádným rizikem nákazy. Přenos nákazy transfuzí krve je nepravděpodobný, ale i přesto jsou osoby s vyšším rizikem nákazy (ti, kteří pobývají déle v oblasti s vysokým rizikem výskytu bovinní spongioformní encefalopatie) vyřazovány z dárcovství krve. V souvislosti s dezinfekcí v rámci prevence je nutno podotknout, že původce této infekce je odolný vůči běžným fyzikálním a chemickým způsobům dekontaminace. Destrukce původce je možná jediným způsobem, a to autoklávováním.

Virové infekce

Virová horečka Chikungunya

Nově se objevující a znovu zavlečené nákazy (tzv. emerging viruses) zahrnují také **virovou horečku Chikungunya**. Etilologickým agens této infekce je virus z čeledi Togaviridae Chikungunya (CHIKV). Zmínka a popis onemocnění se poprvé objevil v roce 1952 v Tanzánii. Virus pravděpodobně pochází z tropické Afriky, kde cirkuluje mezi divokými primáty a moskyty rodu *Aedes* spp. (*Aedes aegypti*, *Aedes africanus* a *Aedes albopictus*, který je nazýván „komár tygr“ pro své agresivní chování a vysokou aktivititu i ve dne za světla). K dalším hostitelům viru patří lidé, ale i jiní savci a ptáci. Můžeme konstatovat, že mezilidský přenos prozatím prokázán nebyl. Onemocnění se vyskytuje ve světě hlavně v Africe, Indii, jihovýchodní Asii a na Filipínách. Jaká infekční dávka je potřebná k přenosu, to není známo. Imunita přetrvává dlouhodobě a obvyklá inkubační doba je 1-12 dní.

Klinický průběh infekce většinou bývá mírný a velmi vzácně končí úmrtím. Příznaky onemocnění se poprvé začínají objevovat většinou 5.-7. den po přenosu původce infekce na hostitele. Dominují především vysoká tělesná teplota, bolesti hlavy, kloubů a svalů, objevuje se erytém na tvářích a trupu, který může přecházet v makulopapulózní exantém s pruritem. Dále se pak může objevit konjunktivitida s fotofóbií. Bolesti drobných kloubů mohou přetrvávat až několik měsíců, ojediněle se mohou vyskytnout příznaky neurologické a hemoragické. K úzdavě dochází spontánně, terapie je pouze symptomatická.

Původce infekce byl detekován u místně se vyskytujících komárů *Aedes albopictus*, který se vyskytuje v Evropě v Albánii, v Belgii, v Bosně a Hercegovině, v Černé hoře, v Chorvatsku, ve Slovinsku, ve Španělsku, ve Švýcarsku, ve Francii, v Itálii, v Nizozemí, v Portugalsku a v Řecku.

Doporučení pro cestovatele do endemických zemí:

- Používat repelenty alespoň s 30 % koncentrací DEET (N,N-diethyl-m-toluamid). Těhotné ženy a děti mladší 12 let po konzultaci s lékařem.
- Nosit světlé volné oblečení s dlouhými rukávy a kalhotami zejména v období největší aktivity komárů, tj. ráno a večer. Komár *Aedes albopictus* je aktivní i ve dne za plného světla. K ochraně spících osob jsou vhodné moskytiéry.
- Těhotné ženy, imunosuprimovaní pacienti a pacienti s jiným závažným základním onemocněním zváží jiné ochranné prostředky po konzultaci s lékařem.
- Cestovatelům, kteří po návratu z rizikových oblastí do 12 dnů pozorují horečku nebo kloubní bolesti, je doporučeno kontaktovat svého praktického lékaře

V České republice se provádí laboratorní diagnostika v SZÚ v NRL pro arboviry pomocí komplement fixační reakce.



Na závěr se můžeme pokusit o shrnutí hlavních problémů, které souvisejí v současnosti s nově se objevujícími infekčními agens. V první řadě se jedná o problémy v diagnostice, v úvahu přichází elektronová mikroskopie, molekulárně genetické metody (PCR, sekvenace) event. kultivace a následně vyšetření protilátek. Dále je potřeba mít hlubší poznání o způsobu šíření, prevence a léčby těchto infekcí. Posledním problémem je pak šíření informací, tzn. rychlé šíření odborných informací a snaha zamezit šíření informací neoborných, které vedou k panice mezi lidmi.