

2. BAKTERIOLOGIE

1. Rod Bordetella	3
2. Rod Haemophilus	7
3. Rod Pseudomonas	10
4. Rody Brucella a Francisella	13
5. Rod Yersinia	17
6. Rod Campylobacter a Helicobacter	23
7. Čeleď Vibrionaceae	27
8. Rod Salmonella	31
9. Rod Shigella	35
10. Rod Escherichia.....	37
11. Rody Klebsiella, Enterobacter, Serratia a Citrobacter	40
12. Rody Proteus, Morganella a Providentia.....	44
13. Rody Pasteurella a Legionella.....	46
14. Rod Neisseria	49
15. Rody Moraxella, Alcaligenes, Burkholderia, Stenotrophomonas a Acinetobacter	57
16. Rod Staphylococcus – Staphylococcus aureus	60
17. Rod Staphylococcus – koaguláza-negativní stafylokoky.....	66
18. Rod Streptococcus – Streptococcus pyogenes.....	69
19. Rod Streptococcus – β -hemolytická skupina	75
20. Rod Streptococcus - viridující skupina.....	78
21. Rod Corynebacterium.....	83
22. Rody Listeria a Erysipelothrix	86
23. Rod Bacillus.....	89
24. Nesporulující anaerobní bakterie	93
25. Rod Clostridium (Clostridium tetani).....	99
26. Rod Clostridium (Clostridium botulinum)	103
27. Rod Clostridium (anaerobní traumatózy).....	105
28. Rody Actinomyces a Nocardia	110
29. Rod Mycobacterium	113
30. Rod Treponema	120
31. Rod Leptospira.....	125
32. Rod Borrelia	127
33. Rody Rickettsia a Coxiella	132
34. Rod Mycoplasma	139
35. Rody Chlamydia a Chlamydophila	142
36. Streptokokové infekce	146
37. Stafylokokové infekce	151
38. Bakteriální původci sepsí	155
39. Bakteriální původci typických a atypických pneumonií	163
40. Anaerobní infekce.....	173

1. Rod Bordetella

Gramnegativní kultivačně náročné aerobní tyčinky

- *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis* – patogenní pro člověka; jsou původci syndromu pertuse čili dávivého (černého) kašle.
- *Bordetella bronchiseptica* - běžný patogen resp. traktu zvířat, u člověka je schopna podobné onemocnění vyvolat jen výjimečně.

Morfologie:

- velmi malé, opouzdřené, gramnegativní kokobacily
- jsou striktně aerobní
- nepohyblivé

Kultivace:

- *B. pertussis*
 - neroste na běžných půdách (některé složky agarů jsou pro ně toxické)
 - roste na půdách obohacených aktivním uhlím a dalšími složkami (krev, albumin, škrob, nikotinamid).
 - nefermentuje cukry, ale oxiduje aminokyseliny.
 - kultivace - Bordetova-Gengouova půda (žanguova), která obsahuje bramborový extrakt s glycerinem a 25% beraní krve.
 - novější typy půd jsou založeny na působení aktivního uhlí a škrobu, jsou obohaceny niacinem a jako inhibitor růstu normální flóry obsahují např. cefalexin.
 - kolonie jsou průhledné a droboučké, perleťově se lesknou a mohou mít úzkou zónu hemolýzy.
- *B. parapertussis*
 - kultivace je jednodušší, roste na KA, ČA a někdy i na MacConkeyho půdě.
 - má větší kolonie obklopené tmavě hnědým pigmentem s výraznější hemolýzou.

vlastnost	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>
růst na KA, ČA	-	+
růst na MacConkeyho půdě	-	+ / -
doba růstu	3-5 dnů	1-3 dny
oxidasový test	+	-
ureasový test	-	+

Antigeny:

- Antigeny O jsou u bordetel rodově specifické.
- Jednotlivé kmeny se liší pouzdernými antigeny K, čehož lze využít k rozlišení izolátů při epidemiologických studiích.

Patogenita:

Syndrom pertuse (dávivého kašle)

- pertussis = lat. „těžký kašel“, parapertussis = latinsky „jako těžký kašel“.
- *B. parapertussis* vyvolává většinou onemocnění lehčího rázu, jinak se liší od pertuse spíše kratší dobou trvání příznaků.
- přenáší se kapénkami infekčního aerosolu, po 7-10 dnech inkubace se objeví první klinické příznaky.

- onemocnění probíhá postupně ve **třech stádiích**:
 - katarální stádium (1. až 2 týden nákazy)
 - připomíná obyčejné nachlazení se zvýšenou teplotou, vodnatou rýmou, únavností a nechutenstvím.
 - v této době se obyčejně na pertusi nemyslí, pacient představuje zvýšené epidemiologické riziko.
 - bordetely je možné vypěstovat z faryngálního výtěru (pokud se na ně myslí).
 - v této fázi lze také podáváním antibiotik ovlivnit rozvoj choroby a zkrátit její trvání.
 - paroxysmální stádium
 - po 1-2 týdnech od nákazy se u pacienta projeví mučivé záchvaty kašle s hojným hlenem.
 - dítě je dušné a cyanotické. Záchvat kašle je zakončen sípavým nádechem přirovnávaným ke „kokrhání“, často se nemocný též pozvrací.
 - záchvaty, kterých je i 40 až 50 denně, vedou ke značnému vyčerpání pacienta.
 - z laboratorních nálezů je charakteristická lymfocytóza.
 - rekonvalescentní stádium
 - po 2-4 týdnech od nákazy, trvá asi měsíc, někdy i déle.
 - zmírňuje se sice počet a tíže záchvatů kašle, mohou se ale objevit sekundární komplikace – např. infekce pyogenními koky nebo neurologické komplikace (pertusová encefalopatie).
- charakteristický průběh onemocnění však může být také značně pozměněn tam, kde je rozvinuta částečná imunita. Pertuse se pak projeví například jako přetrvávající kašel, někdy se zvracením.
- syndrom podobný pertusi mohou vyvolat též adenoviry a *B. bronchiseptica*.

Patogeneze:

- celý výše popsáný průběh pertuse zahájí přilnutí bordetel na řasinkový epitel dýchacích cest.
- bordetely se zde množí, blokují funkci řasinek a postupně lokálně poškozují sliznici a celkově ovlivňují organismus produkovanými toxiny.
- do oblasti poškozeného, nekrotického epitelu pronikají polymorfonukleáry a vzniká peribronchiální zánět a intersticiální pneumonie.
- za přilnutí bordetel k epitelu trachey a bronchů odpovídají **dva adheziny**:
 - vláknitý hemagglutinin
 - váže se na glykolipidy epiteliálních membrán a na glykoproteinový receptor na povrchu polymorfonukleárních leukocytů.
 - fagocytované bordetely nejsou ale zničeny, naopak jsou schopné intracelulárně perzistovat, což je chrání před protilátkami a vede k perzistentnímu nosičství
 - pertusový toxin
 - tvoří 6 subjednotek – jedna toxická subjednotka S1 a 5 vazebných subjednotek S2, S3, 2xS4 a S5
 - pomocí S2 se bordetela naváže na glykolipid buněk řasinkového epitelu,
 - S3 zvýší počet glykoproteinových receptorů na fagocytech a vytvoří tak větší počet vazebných míst pro vláknitý hemagglutinin.
- po vazbě na buňku složka S1 pertusového toxinu inaktivuje regulační G-protein vázaný na membránu, který normálně inhibuje adenylátcykласu. Tak vlastně adenylátcykласu nepřímou stimuluje, což vede ke zvýšení sekrece na sliznici dýchacích cest a produkci hojného hlenu, který je právě v paroxysmálním stádiu úporně vykašláván.

- toxin způsobuje nápadnou lymfocytózu (zvýšený počet bílých krvinek) - podněcuje uvolnění lymfocytů z kostní dřeně, lymfatických uzlin a sleziny, ale uvolněné lymfocyty morfologicky jinak zcela normální, nejsou schopny vracet se do lymfoidních tkání.
- samotné bordetely rovněž adenylátcyklasu produkují a tento enzym inhibuje fagocytózu a, je-li pohlcen fagocytujícími buňkami, inhibuje jejich baktericidní aktivitu. Tím chrání bordetely v počáteční fázi infekce. Mutanty postrádající adenylátcyklasu jsou avirulentní.
- Pili a pertactin - dva nověji objevené adheziny se váží na povrch savčích buněk, ale jejich role není ještě zcela objasněna.

Bordetely ovšem kromě pertusového toxinu produkují ještě toxiny další: hemolysin, dermonekrotický toxin, tracheální cytotoxin a lipopolysacharid.

FUNKČNÍ PŘEHLED JEDNOTLIVÝCH TOXINŮ BORDETELLA PERTUSSIS	
TOXIN	FUNKCE
pertusový toxin	dereguluje adenylátcyklasu hostitelské buňky, což vede k produkci hlenu, inhibuje fagocytózu a migraci mononukleárů
tracheální cytotoxin	jsou to peptidoglykanové fragmenty buněčné stěny bordetel Jsou toxické pro řasinkový epitel, podporují uvolnění interleukinu-1 a horečku
adenylátcyklasa, hemolysin	zvyšuje intracelulární hladinu adenylátcyklasy a inhibuje fagocytózu a migraci monocytů (podobně jako pertusový toxin)
lipopolysacharid	aktivuje komplement alternativní cestou a stimuluje uvolnění cytokinů, jeho role v patogenezi onemocnění není ještě zcela objasněna
dermonekrotický toxin	role není zcela jasná, v experimentu na zvířeti způsobuje kožní leze

Terapie:

- erytromycin
- přestože je pertuse bakteriální onemocnění, jakmile se rozvine celý proces a uplatní se vliv toxinu, ATB již průběh pertuse příliš neovlivní, ale v katarálním stádiu ATB bordetely eliminují a tím snižují infekčnost.
- právě v katarálním stádiu, kdy by bylo podávání antibiotik žádoucí a nejúčinnější, většinou pertuse ještě rozpoznána není.
- erytromycin může být použit také profylakticky u osob, které přišly do kontaktu s nemocným

Epidemiologie:

- dávivý kašel je výhradně lidským onemocněním.
- *B. pertussis* **nemá žádný přírodní rezervoár**, je přenosná pouze z člověka na člověka infekčním **aerosolem!**
- ve světě každoročně stále postihuje kolem **60 milionů lidí**.
- pertuse není výlučně onemocnění malých dětí, onemocnět mohou i větší děti a dospělí, jakmile poklesne navozená imunita.

Prevence:

- očkování - podle očkovacího kalendáře 2002 se proti pertusi poprvé očkují děti staré 9-12 týdnů, pak v odstupu 1-2 měsíců dostanou další 2 dávky. Základní očkování tedy zahrnuje podání celkem 3 dávek. Přeočkování čeká dítě v 18 měsících a v 5 letech.

- v ČR se používají vakcíny proti pertusi kombinované s očkováním proti záškrtu a tetanu, případně i proti infekcím, které způsobuje *Haemophilus influenzae* sérotyp b.
- *Hexavac* – záškrť, tetanus, poliomyelitida, *H. influenzae* b., hepatitida B, pertuse
- existují 2 typy vakcín proti pertusi:
 - celobuněčné - obsahují inaktivovanou suspenzi *B. pertussis*
 - acelulární - obsahují jen jednotlivé antigenní složky (např. vláknitý hemaglutinin, pertusový toxin a pertactin. Při použití acelulárních vakcín je pozorován nižší výskyt vedlejších účinků (reakcí) po očkování, při stejné schopnosti navodit ochranu
- přes zavedené očkování se u nás jednotlivé případy pertuse občas vyskytnou – 329 případů v roce 2002. To ale neznamená, že očkování není účinné. Dávivý kašel přestal být obávaným mučivým onemocněním ohrožujícím celou dětskou populaci, to je podstatné.

Laboratorní diagnostika:

- v laboratorním průkazu dávivého kašle se kombinují metody přímého i nepřímého průkazu, nemusí spolu ale vždy korespondovat.
- mikroskopie se moc neuplatňuje, je málo citlivá, metodou přímé imunofluorescence se zachycuje jen něco méně než 50 % pozitivních případů.
- základní význam má kultivace
 - materiál - výtěr z nosohltanu
 - tampón se před vyočkováním nasytí kapkou penicilinu (eliminace grampozitivních bakterií z dýchacích cest).
 - kultivuje se aerobně při 35°C na Bordetově-Gengouově půdě.
 - z podezřelých vykultivovaných kolonií se dělá preparát barvený Gramem a aglutinují se specifickým antisérem.
 - sklíčková aglutinace s pertusovým a parapertusovým sérem odliší jednotlivé druhy
- biochemie – méně častá; je založena na detekci produkce oxidasy a ureasy, redukci nitrátů a schopnosti pohybu
- v diagnostice dávivého kašle je poměrně velmi citlivá metoda PCR (citlivost více než 80%).
- k sérologickému průkaz pertuse se používá metoda ELISA (stanovují se např. IgG a IgA proti vláknitému hemaglutininu či IgG vůči pertusovému toxinu) nebo aglutinace, ale je třeba prokázat signifikantní (tedy aspoň čtyřnásobný) vzestup titru protilátek.

Bordetella bronchiseptica

- na rozdíl od obou ostatních druhů je pohyblivá a kultivačně značně skromnější. Roste na KA a MacConkeyho půdě.
- bakterii lze často izolovat z dýchacích cest různých savců (psů, prasat a laboratorních zvířat), v klinickém materiálu pocházejícího od lidí není příliš častá.
- vyvolává onemocnění připomínající pertusi nazývané též někdy *pertussis-like syndrome*
- je příležitostně původcem sepsí, infekcí ran, endokarditid, meningitid a peritonitid.
- jejími oběťmi jsou nejčastěji alkoholici a osoby s poruchami imunity nebo výživy.
- **ATB:** citlivý na chloramfenikol, tetracykliny, cefuroxim nebo cefotaxim.

2. Rod *Haemophilus*

morfologie:

- gramnegativní, ale barví se slabě
- drobné, nepohyblivé, nesporující
- v klinickém materiálu kokobacily, in vitro ve starších kulturách dlouhé tyčinky až vlákna

taxonomie:

- patří do čeledi Pasteurellaceae
- *H. influenzae*, *H. aegyptius*, *H. parainfluenzae*, *H. aphrophillus*, *H. haemolyticus*, *H. ducrey*
- objevení - R. Koch
- mylně považován za etiologické agens chřipky, pak prokázán virus chřipky a zjištěno, že *Haemophilus* vyvolává pouze superinfekci

kultivace:

- fakultativně anaerobní
- většinou vyhovuje atmosféra obohacená o 5-10% CO₂
- závislost na růstových faktorech X-heminu a V-NAD a NADP
 - H. influenzae*, *H. aegyptius* - vyžaduje oba faktory,
 - H. parainfluenzae* - vyžaduje jen faktor V,
 - H. aphrophilus*, *H. ducrey* - vyžaduje jen faktor X,
- faktor V (NAD, NADP): nutný pro oxidačně redukční procesy v buňce
- faktor X (hemin): hemofilům závislým na faktoru X chybí enzymy pro syntézu protoporphyrinu z aminolevulové kyseliny; případně jiné enzymy k syntéze heminu - ten je nutný pro funkci bakteriálních enzymů (respirační enzymy, katalasa, peroxidasa atd.)
- závislost na faktoru X a V se prokazuje růstem hemofilů v okolí disků obsahujících tyto faktory na půdách bez obsahu růstových faktorů
- protože však půdy mohou obsahovat stopy heminu, je nutné potvrdit závislost na faktoru X tzv. porfyrinovým testem = kmen se naočkuje do média s obsahem aminolevulové kyseliny; po 4hod. inkubaci vykazuje médium u kmenů se schopností syntetizovat porfyriny v UV světle červenou fluorescenci
- krevní agar nevhodný = přestože krevní agar oba růstové faktory obsahuje, není vhodný na kultivaci hemofilů – V.faktor je zde degradován NAD-asou. přítomnou v krvi.
- růst na čokoládovém agaru => po zahřátí krevního agaru na 80°C je NAD-asa inaktivována a zároveň se z erytrocytů uvolní hemin. Kolonie jsou drobné, průsvitné, připomínající kapky rosy. Přidání bacitracinu potlačuje doprovodnou mikroflóru (hemofily jsou k němu rezistentní)
- agar Müller – Hintonové: testování kmenů na ATB
- satelitový fenomén: v okolí hemolyzujících druhů (např. *Staphylococcus aureus*) = vlivem lýzy erytrocytů dochází k uvolnění heminu do média, tyto bakterie také produkují NAD ve velkém množství => oba růst. faktory dobře dostupné a díky tomu rostou hemofily v okolí těchto hemolyzujících bakterií (ve formě drobných průhledných kolonií)

odolnost:

- optimální teplota 37°C
- náchylné k zevním vlivům => odběry nutno rychle zpracovat

patologie:

- přirozená součást mikroflóry na sliznici nosohltanu, jsou ovšem schopni vyvolávat nemoci, hlavně *H. influenzae* – typ b
- *H. aegyptius* – konjunktivitidy, brazilská purpurová horečka
- ostatní haemophily: lehčí infekce dých. cest
- *H. ducreyi* – sexuálně přenosný měkký vřed

diagnostika: - vždy pouze **přímý průkaz**

H.influenzae

- byl mylně považován za agens chřipky (influenza)
- **biotypy**: na základě průkazu tvorby indolu a přítomnosti ureasy a ornitindekarboxylasy → 8 biotypů; nejčastější I, II, III
- **patogeneze**:
 - přenos kapénkami, příp. kontaktem
 - k rozvoji infekce napomáhá předchozí poškození sliznice virovou infekcí + oslabení imunity
- **faktory virulence**:
 - tvorba pouzdra
 - podle antigenní struktury polysacharidů pouzdra dělení do 6 serotypů a-f,
 - nejvíce patogenní u dětí je typ b s polysacharidem polyribosylribitolfosfátem,
 - dospělí jsou vůči typu b vybaveni dostatečným titrem protilátek;
 - díky pouzdru odolávají účinkům imun. systému hostitele
 - adheziny, bakteriální pili – zvyšují adhezi k epitelům;
 - endotoxin – zodpovědný za zánětlivou odpověď organismu; uplatňuje se i jako ciliostatická substance (poškozuje řasinkový epitel dých. cest)
- **patogenita**:
 - u dětí - meningitidy, otitidy, epiglottitidy
 - u dospělých - komunitní pneumonie
 - typ b: kolonizuje dých. cesty, kde vyvolává infekce nejčastěji
 - od lehkých faryngitid, sinusitid po těžké pneumonie, epiglottitidy a celulitidy
 - skrz epitel proniká do cév → bakteriemie → meningitidy (nejčastější původce meningitid u dětí), septická artritida, perikarditida
 - akutní epiglottitida:
 - otok zánětlivě změněné epiglottis, vede k uzavěru dých. cest a udušení.
 - nejčastěji u dětí 2-5 let
 - progrese je velmi rychlá, objevuje se vysoká teplota, výrazná bolest v krku, obtížné dýchání (zejména inspirium)
 - akutní meningitida:
 - závažné onemocnění u dětí
 - jako komplikace otitid, infekcí dých. cest
 - bakterie z nosohltanu pronikají skrz epitel do lymfy nebo krve, dostávají se do oblasti CNS.
 - úmrtnost 3-8%, trvalé následky 20-40%
 - v likvoru polynukleáry
 - pneumonie
 - bronchopneumonie, lobární pneumonie
 - ostatní sérotypy méně patogenní, spíše lokalizované infekce dých. cest (faryngitidy, bronchitidy, tracheitidy, pneumonie), hlavně po předchozí virové infekci, charakteristický je dráždivý kašel. Dále konjunktivitidy, otitidy, sinusitidy
 - neopouzdržené kmeny - nižší patogenita – lehčí respirační onemocnění
- **diagnostika**:
 - nazofaryngeální výtěr, hnis, punkáty, u meningitid likvor
 - rychle zpracovat, náchylné k zevním vlivům (= použití transportních půd, uchovávat v pokojové teplotě, při 4°C v ledničce hynou)

- čokoládový agar, satelitový fenomén, bacitracin, faktory V a X (vše viz výše)
- určení sérotypu: latexová aglutinace (hlavně při vyšetření likvoru – rychlá identifikace agens a rychlé zahájení terapie), nutno doplnit kultivací (kvůli křížení s jinými antigeny)

- léčba:

- amoxicilin
- na kmeny produkující β -laktamasy: co-amoxicilin, cefuroxin, co-trimoxazol, clarithromycin
- invazivní infekce: kromě ATB i symptomatická terapie a zajištění základních životních funkcí
- akutní epiglottitida: dýchání chladného zvlhčeného vzduchu, poloha vsedě v předklonu
- akutní meningitida: parenterálně cefalosporiny III. generace
- kortikoidy snižují riziko pozdních následků (postinfekční hluchota)

- prevence:

- kapsulární polysacharid *H. influenzae* typ b jako očkovací látka
- vakcína se může kombinovat spolu s vakcínami proti tetanu, difterii a pertusi

epidemiologie:

- novorozenci a kojenci výjimečně
- později běžné - od třetího měsíce do jednoho roku života u 50% dětí, do konce třetího roku 100%
- patří k FF HCD (asi u 80% zdravé populace)
- přenos vzdušnou cestou, zdrojem člověk, výskyt častěji v zimě a na podzim

Další hemofily

H. aegyptius

- biotyp *H. Influenzae*
- objeven Kochem z purulentních konjunktivitid egyptských dětí (i dnes je jejich nejčastějším původcem)
- brazilská purpurová horečka – septické onemocnění dětí, poškození kapilár a cév → purpura

H. parainfluenzae

- obecné pravidlo: pokud má mikrob v názvu „para-“, je méně patogenní než mikrob se stejným názvem bez „para-“
- normální mikroflóra dutiny ústní a horních dých. cest
- lokální infekce dých. cest, otitidy, sinusitidy, konjunktivitidy; u oslabených pneumonie

H. aphrophilus

- potřebuje $\uparrow$ CO₂ (aphros = bublinky)
- normální mikroflóra horních dých. cest, lehčí infekce dých. cest

H. haemolyticus

- součást mikroflóry nosohltanu, schopen lyzovat ery, infekce dých. cest

H. ducrey

- původce měkkého vředu (ulcus molle) – vzácná sexuálně přenosná choroba, bolestivé ulcerace v oblasti genitálu, reakce příslušných lymf. uzlin
- čokoládový agar s obsahem 5-10% bovinního fetálního séra, odběr přímo z vředovité léze
- mikroskopický obraz připomíná hejno ryb, drobné G- kokobacily jsou uspořádány paralelně v shlucích či krátkých řetzcích
- nutný vyšší obsah CO₂, teplotní optimum 33-35 °C

3. Rod *Pseudomonas*

Řadí se ke gramnegativní nefermentujícím bakteriím – nejsou schopny fermentovat glukózu, některé ji však mohou štěpit aerobně resp. mechanismem.

Pseudomonas aeruginosa

- nejčastěji izolovaný a klinicky nejvýznamnější druh celého rodu!
- vyskytuje se v různých vodách včetně odpadních, ve střevě obratlovců, na rostlinách a v půdě.
- může zamořovat nemocniční prostředí, kde s oblibou kontaminuje katétry, infuzní roztoky, dýchací přístroje apod.
- náleží k obávaným původcům nosokomiálních nákaz, na nichž se podílí ve více než 10% případů.

Morfologie:

- mírně zahnuté, štíhlé, většinou pohyblivé gramnegativní tyčinky.
- občas jeví sklon k polárnímu barvení.
- buňky někdy bývají obaleny slizovou vrstvou napodobující pouzdro. Mají bičíky a fimbrie.

Kultivace:

- kultivace je velmi snadná.
- kolonie většiny kmenů mají typický vzhled (β -hemolýza, perleťový až kovový lesk, pigmentace, zápach).
- *P. aeruginosa* může tvořit celou řadu pigmentů (většinou zelených, lat. *aerugo* - měděnka), z nich nejčastější jsou modrozelený pyocyanin (řec. *pyon* - hnís, *kyaneos* - modrý) a žlutozelený fluorescein.
- mladé kolonie vydávají vůni připomínající jasmínový či lipový květ nebo fialky, starší páchnou po amoniaku.

Biochemie:

- Biochemická aktivita je celkem pestrá.
- *P. aeruginosa* štěpí řadu cukrů a vykazuje oxidasovou, katalasovou a ureasovou aktivitu.
- Biochemické určení je významné zejména u nepigmentovaných kmenů *P. aeruginosa*, které tvoří 5-20% všech izolátů tohoto druhu.

Antigenní struktura:

- tělový antigen – podle něj se rozlišuje zatím 17 sérotypů
- disponují též antigeny bičíkovými a fimbriálními.

Patogeneze:

Patogenita je dána strukturami vázanými na bakteriální buňku a tvorbou různých exolátů.

- *z buněčných struktur se zde uplatňuje:*
 - extracelulární polysacharid alginát, který vytvářejí zejména mukózně rostoucími kmeny u pacientů s cystickou fibrózou plic.
 - lipopolysacharidový komplex buněčné stěny - soubor typově specifických antigenů indukujících tvorbu opsonizujících protilátek.
- *z extracelulárně produkováných látek:*
 - proteolytické enzymy štěpící kolagen, fibrin a elastin a poškozující stěny kapilár → vznik hemoragií a nekróz, dále inhibice fagocytózy a zábrana opsonizace kvůli narušení složek komplementu.

- dva typy hemolyzinů:
 - jeden má charakter termostabilního glykolipidu s letálním účinkem pro myš a cytotoxicitou pro tkáňové kultury;
 - druhý se chová jako fosfolipasa C
- cytotoxin narušující buněčné membrány, leukocidin, a některé další substance.

Patogenita:

- patogenita se týká téměř výhradně osob s porušenou imunitou - těžkým základním onemocněním (hemoblastózy, tumory, diabetes, autoimunitní choroby, cystická fibróza plic aj.), popáleninami, pacientů pod imunosupresí (například po transplantacích) a lidí užívajících širokospektrá antibiotika.
- predisponujícími faktory jsou dlouhodobě zavedené cévky, tracheální kanyly, močové katétry.
- může způsobit infekci jakéhokoli orgánu či systému těla. K těm prognosticky nejhorším náleží
 - infekty popálenin (smrtnost těchto sepsí je kolem 60%),
 - sepsu novorozenců
 - osteomyelitidy
 - devastující infekce oka (v důsledku uplatnění proteolytických enzymů).
- **komunitní infekce** - málo časté, většinou nezávažné – otitis externa, infekce ran, uroinfekce
- **nozokomiální** – infekce dých. cest, uroinfekce/uroseps, meningitidy, osteomyelitidy, infekce operačních ran, infekce popálenin

Prevence:

- Jako prevence by připadalo v úvahu využití polyvalentních vakcín připravených z tělových antigenů.

Terapie:

- bývá často svízelná - *P. aeruginosa* je mistrem ve schopnosti přejímat plasmidy jiných mikrobů obsahující geny kódující mnohočetnou rezistenci k ATB a předávat je dalším kmenům. Takto pak dochází k lavinovitému šíření polyrezistentních kmenů po klinikách.
- obecně lze při terapii infekcí vyvolaných *P. aeruginosa* užít kombinace dvou látek (zvýšení účinku, oddělení rezistence, snížení případné toxicity).

ATB: protipseudomonádové peniciliny (např. piperacilin a jeho chráněná varianta s tazobaktamem) cefalosporiny III. (ceftazidim) a IV. (cefepim) karbapenemy (imipenem, meropenem)
 protipseudomonádové aminoglykosidy (netilmicin, amikacin)
fluorochinolony (ciprofloxacin, levofloxacin)

Laboratorní průkaz:

- přímý průkaz je snadný vzhledem ke kultivační nenáročnosti mikroba a charakteristickým znakům kolonií většiny kmenů.
- v případě nejasností je vhodná biochemická identifikace (NEFERMtest 24)
- z epidemiologických důvodů se někdy provádí i sérotypizace a fagotypizace izolovaných kmenů.

Ostatní pseudomonády:

Pseudomonas alcaligenes

- cukry neštěpící druh, jehož biochemická identifikace bývá někdy dosti obtížná.
- je to občasný původce lokalizovaných hnisavých infekcí, etiologické agens infektů oka a těžce probíhajících endokarditid se smrtelným koncem.

Pseudomonas fluorescens

- bývá patogenem pouze příležitostně.
- zdrojem těchto infekcí bývají většinou infuzní roztoky, voda apod., které tento mikrob obzvláště rád kontaminuje.
- k infekcím dochází relativně zřídka, mívají těžký průběh. Zvláštností druhu je jeho schopnost růstu při 4°C v chladničce.

Pseudomonas mendocina

- obzvláště ve vzorcích od osob se sníženou imunitou.
- speciálním cílem útoku mikroba bývají pacienti s mnohočetným myelomem.

Pseudomonas putida

- druh podobných vlastností i pole působnosti jako *P. fluorescens*. Nedovede ale růst v lednici při 4°C, zato oproti jmenované dobře roste při 42°C.

Pseudomonas stutzeri

- vyskytuje se v přírodě, kde je dostatečně vlhko.
- může vyvolávat hnisavé záněty středního ucha, kloubů a spojivek, bývá i pravidelným původcem sepsí.
- kolonie velmi úporně lpí na povrchu agaru.

4a. Rod Brucella (č. Neisseriaceae)

Rod Brucella řadíme ke gramnegativním kulivačně náročným aerobním tyčinkám!

Definice a rozdělení:

- brucely jsou **kokobacily**, schopné vyvolat onemocnění zvířat i lidí zvané brucelóza.
- rod Brucella zahrnuje celkem sedm druhů z něhož jen čtyři infikují člověka
 - *Brucella melitensis*
 - *Brucella abortus*
 - *Brucella suis*
 - *Brucella canis*
- podle novější analýzy genomu brucel jde spíše o druh jeden, *B. melitensis* - ostatní brucely jsou jen blízce příbuzné biologické varianty (bio-vary).

Biologické vlastnosti:

- brucely jsou extrémně malé, krátké, nepohyblivé gramnegativní kokotyčinky
- ochotně se barví běžnými barvicími technikami; nemají pouzdra

Kultivace:

- striktně aerobní
- vyžadují prodlouženou kultivaci (i víc než týden) na speciálních médiích obohacených sérem a dalšími složkami (některé rostou lépe za zvýšené tenze CO₂) nebo ve žloutkovém vaku kuřecích embryí
- kultivace bývá pozitivní nejčastěji z krve či kostní dřeně
- vzniklé kolonie jsou vlhké a lesklé, někdy průsvitné, jindy kalnější, někdy i fluoreskují.
- produkují oxidasu i katalasu, a redukují nitráty. Cukry neštěpí a jejich ureasová aktivita je variabilní.

= velmi malé velikosti, krátké nepohyblivé kokotyčinky; gramnegativní; bezpouzdré; striktně aerobní; kolonie vlhké, lesklé, průsvitné až kalné, někdy fluoreskující, oxidása a katalasa pozitivní, nitráty redukující, neštěpí cukry, ureasová aktivita variabilní; intracelulární parazit

Antigenní stavba:

- *B. abortus*, *B. melitensis* a *B. suis* mají společné dva povrchové antigeny označované A a M.
- jednotlivé druhy se liší v jejich distribuci:
 - *B. abortus*, *B. suis* má vyšší koncentraci antigenu A
 - *B. melitensis* je naopak vyšší koncentrace antigenu M
 - *B. canis* je antigenně odlišná.
- endotoxin brucel se podobá endotoxinu enterobakterií, jeho účinky na organismus jsou podobné.

Patogeneze:

- Brucely jsou (podobně jako francisely) intracelulární parazité retikuloendoteliálního systému.
- pronikají do organismu nejčastěji poraněnou kůží, třeba i drobnou oděrkou, a velmi snadno pronikají do tkání.
- jsou fagocytovány makrofágy i monocyty a zaneseny do lymfatických uzlin, odtud dále do krve, kostní dřeně, jater, sleziny a ledvin.
- postihovat mohou i pohlavní orgány, dýchací a střevní trakt.

Patogenita:

Brucelóza se manifestuje velmi rozmanitě - má formy:

- hepatolienální,
- kardiální,
- formy postihující pohybový aparát - vyvolávají osteomyelitis,
- jindy meningoencefalitidu.
- u mužů brucelóza někdy vede k orchitidě, u žen mohou brucely vyvolat adnexitidy.

V napadených orgánech vytvářejí granulomy a vedou postupně k destruktivním změnám.

Spektrum klinických projevů závisí na tom, který druh brucel jedince infikoval:

- *B. abortus* a *B. canis* - probíhají mírněji a způsobují hnisavé komplikace
- *B. suis* - způsobuje destruktivní léze a průběh onemocnění je delší
- *B. melitensis* - je nejčastější příčinou brucelóz

Onemocnění, zvané brucelóza, můžeme v literatuře nalézt i pod mnoha jinými, velmi rozličnými názvy, jako Bangova choroba (nakažlivé zmetání skotu), undulující horečka či maltská horečka.

Terapie:

- doxycyklin, příp. v kombinaci s rifampicinem,
- alternativou je kotrimoxazol.

Epidemiologie:

- brucelóza je typická antropozoonóza (infekční onemocnění přenosné ze zvířat na člověka).
- hostitelem brucel infikujících člověka jsou ovce a kozy (*B. melitensis*), prasata (*B. suis*), psi (*B. canis*) a hovězí dobytek (*B. abortus*).
- u zvířat (samic) jsou brucely přednostně lokalizovány v pohlavních orgánech a v placentách.
- brucely se přenáší buď kontaktem s infikovaným zvířetem (nákaza bývá profesionální, u chovatelů dobytka, veterinářů apod.), inhalací infekčního aerosolu nebo konzumací nepasterizovaných sýrů či jiných mléčných výrobků. Pasterizace brucely spolehlivě ničí!
- základem prevence brucelózy je **veterinární kontrola a vakcinace dobytka**. Právě díky ní byla brucelóza v České republice vymýcena. Ve světě (Mexiko, Texas, Středomoří,...) riziko infekce trvá.

Laboratorní průkaz:

- materiál - nejčastěji krev na hemokultivaci a na sérologii, případně kostní dřeň nebo vzorek infikované tkáně.
- suverénní metodou pro přímý laboratorní průkaz brucelózy je kultivace. Mikroskopie není spolehlivá pro svou nízkou citlivost.
- kvůli vysokému riziku laboratorní infekce a nutnosti připravit speciální půdy by laboratoř měla být předem upozorněna na předpokládaný výskyt brucel v zasílaném vzorku!!!
- nepřímý laboratorní průkaz (serologické vyšetření) může klinickou diagnózu potvrdit. Používá se aglutinace a reakce vazby komplementu (KFR), k dispozici je i ELISA a imunofluorescence [pozn – podle skript je nepřímý průkaz/sérologická diagnostika nejčastější metodou]

Brucely jsou však antigenně podobné franciselám, yersiniím, vibriím, salmonelám – je tu možnost, že v testech na brucelózu mohou zkříženě reagovat i jiné protilátky. Kvůli mnohým zkříženým reakcím nelze stanovit diagnózu pouze sérologicky, je nutná kultivace.

4b. Rod Francisella

Definice a rozdělení:

- *Francisella tularensis* - původcem tularémie (nazývané zaječí nemoc).
- typický rezervoárem francisel jsou zajíci. Kromě zajíců jsou vůči franciselám vnímaví i hlodavci.
- z těchto rezervoárů jsou přenosná na člověka, ale i jiná zvířata, které jsou pak dalším zdrojem lidské infekce
- druh *Francisella tularensis* se dělí na poddruhy (subspecies) *tularensis*, *holarctica* a *mediasiatica*.

Biologické vlastnosti:

- francisely jsou velmi malé, nepohyblivé, gramnegativní kokobacily - Gramem se barví špatně, lépe se barví podle Giemsy.
- biochemická aktivita francisel je nepatrná, mají slabě pozitivní katalasu. Vykultivované bakterie se proto neidentifikují biochemicky, jak je jinak v bakteriologii velmi časté, ale pro definitivní identifikaci je nutná aglutinace se specifickým antisérem.
- jsou antigenně příbuzné brucelám a *Yersinia pestis*. Existují v jediném antigenním typu.

Kultivace:

- striktně aerobní, nerostou na běžných půdách
- krvní agar (obohacený cysteinem a glukózou), McCoyova půda (z koagulovaných vaječných žloutků), žloutkový vak embrya kuřete nebo čokoládový agar obsahující taktéž cystein
- kolonie jsou velmi drobné, průsvitné (později se zakalí) a hlenovité
- kultivace musí být delší než normálně – aspoň 3 dny.

Kultivace bývá pozitivní z aspirátu z lymfatických uzlin, zato hemokultury a sputum jsou pozitivní jen zřídka.

= **velmi malé velikosti; nepohyblivé; gramnegativní; kokobacil; striktně aerobní; cystein dependentní; kolonie malé, průsvitné (časem zakalené), mukózní; slabě katalasapozitivní; patogenní kmeny jsou opouzdřené; intracelulární parazit**

Patogenita:

- onemocnění se manifestuje podle místa vstupu francisel do organismu; podle klinické manifestace rozeznáváme několik forem tularémie:
 - forma ulceroglandulární:
 - nejčastější typ, francisely vstupují do kůže kontaminovanou oděrkou či ránou, po 3-5 dnech se objeví horečka, třesavka a nevolnost, v místě vstupu francisel vzniká bolestivý vrátek a zduří regionální mízní uzliny
 - formy orofaryngeální a gastrointestinální:
 - vznikají po požití kontaminované potravy či vody obsahující výkaly, moč hlodavců / zdechliny
 - forma anginózní:
 - vznikne tehdy, vnikne-li infekce do organismu přes tonsily
 - forma tyfoidní:
 - vzniká také požitím francisel v potravě či pití, kromě vředů a krvácení v gastrointestinální traktu je tato forma doprovázena příznaky sepse a multiorgánovým poškozením
 - forma okuloglandulární:
 - forma zahrnuje bolestivou konjunktivitidu a regionální lymfadenitidu, francisely lze přenést na spojivku rukama nebo třeba kontaminovanou vodou
 - forma plicní:
 - vznikne inhalací prachu, například při zpracování sena či slámy kontaminovaných močí infikovaných hlodavců

Patogeneze:

- *F. tularensis* je intracelulární parazit
- bakterie jsou intenzívně fagocytovány mononukleáry a dlouhodobě přežívají v makrofázích retikuloendotelového systému → tak vzdorují antibiotické léčbě, což může vést k chronické infekci s obtížnou eradikací (vymícení) francisel
- patogenní kmeny mají pouzdro, které působí na polymorfonukleáry antifagocytárně.
- endotoxin francisel se uplatňuje podstatně méně než endotoxin jiných gramnegativních bakterií.

Terapie:

- aminoglykosidy - lékem volby je streptomycin, buď samotný nebo v kombinaci s doxycyklinem, dále gentamicin a fluorochinolony.
- při rozsáhlejším postižení lymfatických uzlin je nutná i terapie chirurgická.

Epidemiologie:

- francisely jsou celosvětově rozšířeny. V Evropě se vyskytuje *F. tularensis* ssp. *holarctica*.
- tularémie - typická zoonóza s přírodní ohniskovostí.
- rezervoár – zajíci, vysoce vnímaví drobní hlodavci (myši, křečci, myšice, krysy, veverky)
- infekci mohou udržovat i méně vnímavá zvířata, u kterých probíhá onemocnění zpravidla latentně (ondatry, srnci, lišky, divocí ptáci).
- vektor - krev sající členovci (klíšťata, komáři, blechy, ovádi, vši), kteří přenášejí nákazu mezi rezervoárovými zvířaty, ale i na člověka.
- nakazit se lze infikovaným klíštětem, při stahování kůže ze zajíce, srny, jejich masem (nezpracovaným), infikovanou vodou
- vrchol výskytu tularémie u člověka je během léta (častější vycházky do přírody) či na podzim (odstřel zvěře).

Laboratorní diagnostika:

- přímý laboratorní průkaz - vyšetření materiálu z infikovaných uzlin či ulcerací.
 - o mikroskopie klasického preparátu bývá neúspěšná, jelikož se francisely Gramem barví špatně,
 - o úspěšnější je přímá imunofluorescence - mikroskopie preparátu, který byl „barven“ fluoresceinem navázaným na specifických protilátkách
- vysoké riziko infekce při odběru a manipulaci s klinickým materiálem a možnost laboratorní nákazy. Laboratoř by měla být vždy informována o předpokládaném výskytu francisel v materiálu, právě kvůli delší inkubaci a nutnosti použít speciální média s cysteinem.
- jako velmi nadějná metoda se při vyšetření podezřelých zvířat ukazuje metoda PCR.
- nepřímý laboratorní průkaz, tedy serologický průkaz, je mnohem **běžnější**.
 - o nejčastěji přímá aglutinace nebo metodou ELISA.
 - o problémem je pomalejší vzestup titru protilátek, většinou až za několik týdnů po začátku onemocnění, proto je nezbytné vyšetření opakovat. Titr aglutinačních protilátek může začít stoupat až ve 3. či 4. týdnu příznaků.
 - o za diagnostický se považuje čtyřnásobný vzestup titru protilátek, nebo jediný titr 1:80 a vyšší
 - o protilátky proti franciselám mohou reagovat zkříženě s brucelami, proto při tularémii může být sérologický průkaz brucelózy falešně pozitivní (brucelóza se u nás v současnosti nevyskytuje).

5a. Obecné vlastnosti enterobakterií

Jejich přirozeným prostředím je střevo člověka a obratlovců.

Morfologie:

- gramnegativní nesporulující tyčinky, 2-3 μm dlouhé a 0,5-0,8 μm tlusté
- málo se liší navzájem a málo se liší od ostatních gramnegativních tyčinek => snižuje se význam morfologie v diagnostice.
- některé se polárně barví
- většina je schopna pohybu; Klebsielly, Shigely a *Yersinia pestis* nepohyblivé

Kultivace a citlivost na zevní vlivy:

- fakultativně anaerobní mikroby, rostou na většině kultivačních půd.
- odolnost vůči zevním vlivům různá
 - některé, např. *Enterobacter* výrazně vázány na střevo
 - jiné méně – *Klebsiella* často nalezena i mimo střevo, a např. *Serratia* je přizpůsobena lépe životu mimo střevo
- i ty které se považují za pravé střevní bakterie však můžeme vykultivovat z vnějšího prostředí, kde je považujeme za indikátor fekálního znečištění.

Biochemické vlastnosti:

- vesměs katalasa pozitivní, oxidasa negativní, biochemicky značně aktivní, převažuje fermentativní typ metabolismu.
- biochemické vlastnosti se však liší mezidruhově
- parazitické druhy (salmonely, shigely) méně aktivní než saprofytické (*proteus*)
- některé enterobakterie (klebsiely, enterobaktery, citrobaktery) jsou schopné vázat molekulární dusík N_2 - využívají toho ale jen výjimečně.

Antigenní struktura:

- tři základní typy antigenů O, H a K
- O-antigeny (z něm. „ohne Hauch“) – tělové antigeny, jsou to specifické části polysacharidového řetězce, který je součástí lipopolysacharidu vnější membrány. Jsou termostabilní, své vlastnosti si zachovávají i při vaření. Jednotlivé antigenní typy této skupiny se značí čísly (např. O55, O111...)
- H-antigeny (něm. der Hauch) - bičíkové, tvořeny polymerizovanou bílkovinou – flagelinem. Najdeme je pouze u enterobakterií vybavených bičíky. Pokud jsou bičíky přítomny, jsou zpravidla rozmístěny peritrichálně. Jednotlivé antigeny této skupiny se označují většinou malými písmeny (např. m)
- K-antigeny – polysacharidové, kapsulární antigeny pouzdra. Málo významné pro diagnostiku, mohou se uplatnit jako faktory virulence.
- K-antigeny – polypeptidické, fimbriální antigeny (označují se stejným písmenem jako předchozí, fimbrie jsou v jistém smyslu také součástí pouzdra). Účastní se kolonizace sliznic.
- Forssmanův antigen - u některých salmonel a shigel. Glykolipid vyvolávající tvorbu heterotrofních protilátek

Klinický význam:

- jsou spjaty se střevem obratlovců
- mohou zde působit jako saprofyty, komenzálové (doslova spolustolovníci, organismy žijící s druhým organismem aniž by vyvolávali škodu) ale také jako patogeny vyvolávající chorobné příznaky.
- může se jednat o prostou dysmikrobii, kdy porucha normálního fungování střeva je dána jen změnou poměru jednotlivých druhů a kmenů, může však jít o nahrazení původních složek

běžné flóry novým elementem, přičemž může jít o druh s vyšší patogenitou

- mnohé enterobakterie jsou současně patogenem mimo střevo (nejčastější patogeny urogenitálního systému), infekce ostatních částí méně časté
- přítomnost enterobakterií ve výtěrech v krku bývá často náhodný nález (enterobakterie jsou tam zavlečeny s potravou a samy vymizí), to ovšem neplatí u hospitalizovaných pacientů v těžkém stavu, u nichž enterobakterie horní cesty dýchací s oblibou kolonizují
- sepsy způsobené u novorozenců a kojenců poměrně časté, dále u velmi starých osob (u těch to bývají urosepsy, jako následek kolonizace močových cest a následné poruchy funkce ledvin)
- nejzávažnější stavy způsobované enterobakteriemi jsou meningitidy, především u novorozenců a kojenců

Faktory ovlivňující patogenitu a virulenci

a) Ostrovy patogenity a sekreční systém III. typu.

- Ostrovy patogenity:
 - úseky bakteriálního chromosomu o velikosti 10-200 kilobází
 - tyto úseky obsahují několik genů zodpovědných za vytváření faktorů virulence.
 - předpokládá se, že jako se do chromosomu avirulentní bakterie včlenil celý ostrov najednou, stejně se může celý přenést do genomu jiného druhu či rodu
 - v bakteriálním chromosomu může být přítomno i několik ostrovů patogenity.
- Sekreční systém III. typu
 - při sekreci různých exolátů včetně faktorů virulence používají bakterie 3 systémy, všechny využívají energii přeměny ATP na ADP+P, ve všech 3 potřebné transmembránové proteiny prostupující cytoplazmatickou a povrchovou membránou.
 - **Sekreční systém III. typu** se vyznačuje tím, že i když je v každé membráně odlišný transportní protein, příslušná exolátka se dopravuje přes obě membrány v jediném kroku.

NE VŠECHNY faktory virulence jsou však součástí ostrovů patogenity, a ne všechny mají povahu exolátů, natož aby byly secernovány systémem III typu.

Kromě chromozomálně kódované virulence se u enterobakterií typicky vyskytují i některé typy plasmidů, zejména F-faktory (zodpovědné za tvorbu sex-pilli) a R-faktory (zodpovědné za ATB rezistenci)

b) Faktory virulence společné většině enterobakterií:

- Lipopolysacharid (LPS) se uplatňuje jak ve své lipidické části, tak v části sacharidové.
 - *Lipid A* je vysoce toxická substance (endotoxin), uplatní se však až při rozpadu bakterie
 - *Sacharidovou část* lze rozdělit na oligosacharid a na polysacharidický řetězec antigenních vlastností (O-antigen) chránící bakterii před komplementem.

c) Faktory adhezivity = fimbrie

- adhezivní fimbrie se vyznačují schopností vázat některé struktury (nejčastěji oligosacharidové zbytky membránových glykoproteinů) hostitelských buněk
- mannosacitlivé fimbrie - schopné adherovat na mannosové zbytky (po přidání mannosy do média ruší jejich in vitro adhezenci k erytrocytům)
- mannos rezistentní - fimbrie s jinou vazebnou specifitou; jsou s patogenitou spojovány častěji než mannosacitlivé

d) Další

- vynucená fagocytóza neprofesionálními fagocyty - umožňuje intracelulární přežívání, typická pro salmonely a yersinie
- rozličné exolátky – vytvářejí je některé enterobakterie; může jít o hemolyziny, nebo jiné exotoxiny.

Laboratorní průkaz:

- zásadní význam kultivace a biochemická identifikace = obojí je podkladem tzv. selektivně diagnostických půd, které v sobě obsahují jeden či více biochemických testů
 - fermentace laktosy na Endově a Mac-Corkeyho půdě
 - produkce sirovodíku na půdách určených k identifikaci salmonel - agary DC a XLD
- chromogenní agary - mikroby štěpí substrát, na který je vázaná chromogenní substance, přitom vpravují chromogen do buňky, takže pak rostou v barevných koloniích.
- biochemické testy - k identifikaci podezřelých kolonií
 - ty nejjednodušší – kombinované diagnostické půdy
 - složitější – zpravidla v plastových panelech, zahrnují i desítky diagnostických půd
 - mnohé dnes automatizovány
 - nutné si povšimnout *procenta identifikace* (jaká je % pravděpodobnost, že se jedná o daný druh) a *indexu typičnosti* (čím bližší jedné, tím víc se kmen blíží ideálu daného druhu)
- antigenní analýza – např. u E.coli - detekce kmenů s vyšší virulencí; u salmonel zas spíš epidemiologický důvod a potvrzení biochemického určení
- zjišťování citlivosti na ATB

Epidemiologie:

- většina enterobakterií se přenáší cestou fekálně-orální,
- salmonelóza - přenos potravinami
- úplavice - nemoc špinavých rukou
- E.coli – existuje i vzdušný přenos
- řada infekcí je ale i endogenního původu

Terapie:

- ATB se používají hlavně u mimostřevních infekcí
- u průjemových onemocnění je prokázáno, že ATB terapie jen nepatrně zkrátí dobu trvání příznaků, zato však (zejm. u salmonel) podstatně prodlouží dobu vylučování bakterií stolicí.
 - příčinou je, že ATB nepůsobí jen na patogena, ale také na běžnou flóru, takže vyřazuje z boje účinnou zbraň, kterou se tělo samo brání infekci.
- bývá lepší použít tzv. střevní antiseptika, lokálně působící (nevstřebávají se) – např. ftalylsulfathiazol, chloroxin
- problémem je produkce širokospektrých beta-laktamáz (ESBL, extended spectrum beta lactamase) – odolávají i ATB chráněným např. kys. klavulanovou nebo sulbaktamem.
 - nejčastější producent ESBL – *Klebsiella pneumoniae*
 - často nozokomiální kmeny
 - lze použít karbapenemy (imipenem, meropenem), cefalosporiny IV. gen (cefepim, cefpirom); zatím poměrně dobrá citlivost k fluorchinolonům, lze použít i aminoglykosidy, kolistin (je-li na ně kmen citlivý)
 - často však tyto kmeny bývají polyrezistentní, často bývají odolné i vůči dezinfekci a antiseptikům
- jestli bakterie produkuje nebo neprodukuje ESBL je důležité pro diagnostiku

5. Rod Yersinia

Yersinia pestis

Patří mezi gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinky.
Je nejzávažnějším patogenem z enterobakterií - původce moru.

Morfologie: Typické polární barvení tyčinek (lépe se barví na koncích než uprostřed), lépe než při Gramově barvení vynikne při barvení methylenovou modří nebo při barvení Giemsou

Kultivace: Nenáročná, roste na běžných půdách v širokém rozmezí 0-40°C, i když poměrně pomalu

Biochemie: Je nepohyblivá, trochu se liší od ostatních příbuzných rodů a druhů.

Antigeny: Klíčovým protektivním antigenem je kapsulární proteinový komplex F1
Netvoří O-specifické polysacharidové řetězce

Patogenita a patogenese:

Podle cesty přenosu může dojít ke třem formám infekce:

- 1) **Dýmějový (bubonický) mor** - zahájí svým štípnutím blecha morová. Hlavním příznakem jsou zvětšené a kolikvované regionální lymfatické uzliny (někdy velké až jako slepičí vejce-staročesky dýměje), smrtelné případy končí úmrtím asi za 4 dny
- 2) **Plicní forma** se rozvíjí buď jako komplikace bubonického moru, nebo dojde k nákaze přímým vdechnutím yersinií. Projevuje se krvavým sputem a smrt přichází dva až tři dny po prvních příznacích
- 3) **Septická forma-vzácná**, předpokládá hematogenní šíření. Začíná prudkým nástupem horečky, kůže nabývá purpurové barvy následkem respiračního selhání. Zde může smrt nastat ve stejný den kdy nastaly příznaky.

Neléčený mor končí smrtí v 30-75% případů, u plicní formy u 95%. Léčba snižuje tyto vysoká čísla na jen 5-10%

Diagnostika:

- založena na mikroskopickém a kultivačním vyšetření hemokultur, sputa a aspirátů bubonů
- na suspektní yersinie ukazuje charakteristické bipolární zabarvení.
- prokazuje se kapsulární antigen F1 v specializovaných laboratořích, metodou imunofluorescence.
- nepřímý průkaz – stanovení protilátek pasivní hemaglutinací, za určující se považuje vzestup titru při odebrání dvou vzorků.

Epidemiologie:

- Bubonický mor přenáší **blecha morová (*Xenopsylla cheopis*)**. Původce moru ucpe její zažívací trakt, takže blecha je **stále hladová** a stále saje a saje. Zdroje jsou městské krysy a potkani.
- Plicní forma se přenese vdechnutím prachu většinou obsahující **trus potkanů a krys nebo vdechnutím aerosolu postiženého plicní formou. Je vysoce infekční.**
- Dnes se již mor v Evropě nevyskytuje, najdeme jej však v Africe, jižní Asii a na západě USA.

Terapie:

- Lékem volby jsou fluorochinolony, uvádí se i streptomycin. Dobré zkušenosti jsou i s tetracyklinem či chloramfenikolem. Cestovatelům do endemických oblastí je k dispozici nepříliš účinná vakcína usmrcená formalinem

Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis

Obligátne patogenní bakterie, na rozdíl od *Y. pestis* zpravidla nejde o systémové infekce, nýbrž o nákazy postihující zejména střevo.

Morfologie:

- Gramnegativní tyčinky, pohyblivé jen při nižších teplotách (kolem 25°C)

Kultivace:

- Množí se i při chladničkových teplotách, lze využít diagnosticky.
- Přidáním určitých ATB do půdy lze dosáhnout částečné selektivity-např. půda CIN, která se pro diagnostiku yersinií používá.

Biochemie:

- Charakteristické štěpení močoviny, odlišení od ostatních enterobakterií však jen komplexem testů

Antigenní struktura:

- Stejná jako u jiných enterobakterií, využití v diagnostice.
- především O-antigeny (u nás nejčastější serotyp O3)
- Jako faktor virulence s uplatňuje membránový protein.

Patogenita:

- Způsobují střevní infekce, jsou značně lyfotropní - napadají tkáň kolem červovitého výběžku, imitující tak apendicitidu.
- Nemusí být vždy přítomny průjmy, časté bolesti břicha a horečka.
- Někdy navazuje erythema nodosum nebo arthritidy.
- Vzácně dochází ke generalizaci s horečkou, purpurou a hepatosplenomegalií, která končí smrtí.
- virulence je dána průnikem do tkání a do buněk
 - *Y. enterocolitica*
 - proniká do epitelu a střevní stěny v oblasti ilea – zánět, nekrotické změny, zduření MMU
 - virulentní kmeny jsou schopny se množit v makrofázích
 - *Y. pseudotuberculosis*
 - invazivní bakterie s afinitou k lymforetikulární tkáni, množí se v makrofázích
 - průnik do GIT alimentární cestou – prostřednictvím M-buněk průnik do Peyerových plátů – mezenterální lymfadenitida
 - relativně odolná ve vnějším prostředí – snáší zahřátí 60 °C až 3 hodiny, teplota 80°C ji ničí za 10 minut
- *Y. pseudotuberculosis* – u věkové skupiny 6-18 let, častější výskyt u chlapců; *Y. enterocolitica* bez výraznější preference pohlaví

Patogeneze:

- Uplatňuje se ostrov vysoké patogenity, zahrnuje zejména gen pro siderofor yersiniabaktin.
- Jednotlivé druhy se od sebe poněkud liší:
 - *Y. enterocolitica* - gen yadA, kódující adhesin
 - *Y. pseudotuberculosis* – gen inv, zodpovědný za invazivitu
- proteiny vnější membrány (Yop – yersinia outer membrane proteins) - podílejí na složitém mechanismu toxicity yersinií pro neutrofily a makrofágy.
- U některých kmenů *Y.pseudotuberculosis* byl prokázán toxin, který je svým charakterem superantigen.

Diagnostika:

- Kultivační vyšetření (stolice, uzliny, apendix)
- Půda CIN – selektivní agar
 - kolonie *Y. enterocolitica* - tmavě červený střed obklopený průhledným světlým okrajem („terčovitý“ vzhled) na agaru
- k dourčení lze provést zkoušku aglutinací nebo biochemické metody.
- Běžné sérologické (aglutinační) vyšetření protilátek proti O antigenům.

Epidemiologie:

- Přenos fekálně orálně - zdrojem infekce nejčastěji vepřové maso, dále kontaminovaná voda/mléko, mořské ryby, kontaminovaná zelenina,
- přímý kontakt – nemocný člověk/zvíře
- obecně vyšší výskyt - pozdní podzim a zima

Léčba:

- rehydratace, úprava minerálního metabolismu,
- ATB – fluorochinolony, doxycyklin, cefalosporiny III. gen. (sepsy)
- jsou primárně rezistentní k aminopenicilinům (včetně kombinací s inhibitory betalaktamas) a k cefalosporinům I. a II. gen

6a. Rod Campylobacter

obecně vyvolávají u lidí střevní infekce, aborty u domácích zvířat, uplatňují se jako podmíněné patogeny u lidí se sníženou imunitou

Morfologie a fyziologie:

- zakřivené, až spirálovité gramnegativní tyčinky
- díky polárně situovanému bičíku čile pohyblivé
- mikroaerofilní a kapnofilní, nesporulující

Kultivace:

- nerostou na běžných půdách pro enterobakterie, nutné speciální půdy
 - jednak transportní (Amiesova nebo Stuartova půda)
 - jednak kultivační
 - Butzerovo selektivní médium, Skirrowův krevní agar
 - nejpoužívanější - selektivní médium s aktivním uhlím bez krve (CSM agar) dle Karmaliho. Vykazuje nejvyšší selektivitu z uvedených půd.
- vyžadují mikroaerofilní atmosféru - 5% kyslíku, 10% CO₂ a 85% dusíku.
- nezbytné přidání antibiotik potlačujících doprovodnou střevní mikroflóru (cefoperazon, nebo vankomycin+kolistin).
- inkubace 24-72 hodin při 42 °C .
- kolonie jsou šedivé, ploché, s tendencí nepravidelně se šířit z očkovacích čar

Biochemická aktivita:

- Pozitivní katalasa i oxidasa,
- *C. jejuni* lze od ostatních odlišit díky jeho schopnosti hydrolýzy hippurátu, rezistenci k cefalotinu a citlivosti k nalidixové kyselině.

Antigenní struktura:

- v cytoplazmatické membráně lipopolysacharidový a proteinový antigen,
- bičíkový antigen – dominantní imunogen; důležitý protein využívaný k typizaci (lze odlišit až 110 sérotypů) v diagnostice se toho nevyužívá

Patogeneze:

- za faktor virulence se považuje živá pohyblivost kampylobakterů, která jim umožňuje proniknout vrstvou hlenu až k epitelům
- napadena je sliznice tenkého i tlustého střeva, dochází k její invazi (přítomnost krve ve stolici)
- infekční dávka – 10⁴ bakterií

Patogenita:

- způsobují onemocnění kampylobakterií
- Akutní enterokolitida
 - *C. jejuni* - hlavní lidský patogen (95% infekcí)
 - produkuje enterotoxiny podobné cholarovému toxinu; dále pak cytotoxin
 - *C.coli*, *C.conciscus*, *C.hyointestinalis* - další druhy vyvolávající průjem
 - po požití kontaminované vody/potravy se kampylobaktery množí v tenkém střevě
 - poté invaduje do slizničního epitelu, kde vyvolají zánět. Ve stolici se objevují erytrocyty a leukocyty
 - příznaky: vodnaté průjmy (10 i více stolic denně) s příměsí krve, bolesti břicha, křeče, malátnost, vysoké teploty, zvracení
 - u zdravých osob odezní infekce po 5-7 dnech (i bez ATB, s rehydratací), u menších dětí může dojít k přestupu do krve a manifestaci septických příznaků.

- **Systémové infekce**
 - skupina kampylobakterů, která vyvolává u člověka rovnou extraintestinální systémové infekce, ale velmi vzácně.
 - *Campylobacter fetus ssp.fetus*
- **Postinfekční komplikace u C.jejuni**
 - Reiterův syndrom
 - u cca 2% pacientů po prodělané infekci
 - tetráda: reaktivní artritida, konjunktivitida, uretritida, dermatitida
 - Guillain-Barré syndrom
 - akutní autoimunitní paralytické onemocnění (demyelinizace nervových vláken - akutní, převážně motorická, získaná, autoimunitní periferní neuropatie),
 - prevalence: cca 1 GBS/1000 infekcí.
 - klinický průběh obvykle příznivý, u většiny spontánní a kompletní úprava po 1 roce
 - výrazná rezidua asi u 15 % nemocných, mortalita kolísá od 2 do 12 % v závislosti na kvalitě komplexní péče
 - Miller-Fischer syndrom
 - podobná etiologie jako GBS, descendenní paralýza

Léčba:

- rehydratace, klidový režim, dieta
- ATB pronikající do makrofágů
- makrolidy (azitromycin, klaritromycin), aminoglykosidy, klindamycin, doxycyklin

Diagnostika:

- anamnéza + klinika + kultivační vyšetření
- materiál - rektální výtěr, stolice
- stolice se musí zasílat v transportní půdě
- snadný přímý průkaz - selektivní půdy, kultivace doplněna mikroskopií z kolonií, příp. biochemie.
- event. přímý průkaz antigenů latexovou aglutinací, ELISA
- průkaz protilátek – ELISA, ale pro rutinní diagnostiku není dostatečně spolehlivý. Má význam u pacientů s komplikacemi, nebo systémovou infekcí po proběhlém průjmu, který nebyl kultivačně vyšetřen.

Epidemiologie:

- patří mezi nejčastější původce bakteriálních průjmů, vyrovnává počet salmonelóz
- infekce alimentárně - potraviny, jako chladírenská kuřata, krůty, nepasterizované mléko, kontaminovaná voda
- přímý kontakt s domácími zvířaty.
- prevence – dostatečné tepelné zpracování jídel.

P.S. aerotolerantní kampylobaktery vytvořily nový rod Arcobacter.

6b. Rod *Helicobacter*

Gramnegativní, přísně **mikroaerofilní** bakterie, spirálovitý tvar, obvykle mohutná ureasová aktivita.

Rozdělení:

- *H.pylori* - v lidské patologii jasně nejvýznamnější
- *Helicobacter cinaedi* (případy bakteriémie současně s infekcí HIV a TBC),
- *Helicobacter fennelliae* (z rekta homosexuálů)

Morfologie:

- Ve vzorcích z klinického materiálu nerovnoměrná distribuce, nakupení ve světlejších partiích preparátu – hlenu; bakterie vyhlíží jak vlnovky či spirály, podoba písmen V a Y.

Kultivace:

- Helikobaktery obsazují v lidském organismu místa, kde jiné bakterie nejsou => teoreticky možné kultivovat bez selektivních médií.
 - přesto vhodné inkubovat vzorek tkáně současně na jedné půdě neselektivní a na médiu s přidavkem antibiotik (cefsulodin, trimetoprim, vankomycin, amfotericin B = někteří pacienti mají sníženou aciditu žaludku => možný výskyt kvasinek, G+ koků).
- helikobaktery se kultivují na celé škále půd, připravených na podkladě čokoládového agaru z koňských erytrocytů. Může se použít Thayerův-Martinův agar na gonokoky v modifikaci.
- inkubace ve vlhkém prostředí, v 37°C za přísně mikroaerofilních podmínek - 5 % kyslíku, 10% CO₂ a 85% dusíku.
- nárůst kolonií během 3-7 dnů.
- kolonie jsou drobné, částečně transparentní s našedlým povrchem (pokud pacientovi již byla podávána ATB). V opačném případě větší kolonie během 3-4 dnů; někdy se nacházejí oba typy současně (není pro to žádné vysvětlení)

Biochemická aktivita:

- *H.pylori* produkuje oxidasu, katalasu a ureasu (ta je hojně obsažena v okolní žaludeční sliznici, štěpí močovinu na amoniak; je podstatou ureasového testu)

Antigenní struktura:

- geny *cagA* a *vacA* – pravděpodobně faktory virulence

Faktory patogenity

- vázány na buňku: adhesiny, stěnový lipopolysacharid
- extracelulární: ureasa, katalasa, oxidasa, fosfolipasa, glukofosfatasa, proteasa a produkce proteinu inhibujícího tvorbu HCl

Patogenita a patogenese:

- *H.pylori* patogenní pouze pro člověka. Byla prokázána jeho spoluúčast na vzniku chronické gastritidy, a byl izolován od všech pacientů s vředovým onemocněním žaludku nebo duodena.
- Mikrob se usadí na žaludeční sliznici, obklopí se oblakem zásaditého amoniaku (z rozpadu močoviny).
- Specifický tvar mu umožňuje proniknout pod hlenovou vrstvu sliznice. Zde produkuje glykosulfatasu, která interferuje s glykoproteiny slizničního hlenu.
- K šíření mikroba po sliznici napomáhá tvorba proteas a fosfolipas. Produkce katalasy brání jeho fagocytóze.
- Na konečné destrukci epitelu žaludeční sliznice se tedy přímo podílí jednak *fosfolipasy* atakující buněčné membrány, dále *amoniak*, který degraduje lecithin na toxický lysolecithin.
- Kromě toho zde působí zánětlivé faktory, jejichž tvorba je produkováána přítomností mikroba (interleukiny, TNF, enzymy leukocytů apod.).

- Výsledkem je rozvoj gastritidy, která přejde dříve či později ve vředovou chorobu, nebo přechod zánětu na atrofickou variantu = prekanceróza.
- Klinicky: dyspepsie, někdy asymptomaticky

Terapie:

- trojkombinace amoxicilin + klaritromycin + omeprazol (inhibitor vodíkové pumpy)
- jiná varianta – kombinace amoxicilin + metronidazol + soli vizmutu

Diagnostika:

- Přímý průkaz
 - o vzorky žaludeční sliznice, ty se vyšetřují histologicky, kultivačně a provádí se ureasový test.
 - o kultivuje se homogenizovaný bioptický materiál nebo stěr hlenové vrstvy sliznice provedený endoskopicky (distribuce helicobaktera v hlenu však bývá nepravidelná)
 - o ureasový test - bioptický vzorek se zanoří do polotuhé půdy s močovinou a indikátorem pH, pozitivní výsledek se projeví do 2hod změnou barvy.
 - o druhová identifikace *H.pylori* je relativně snadná na základě morfologie buněk a biochemických reakcí (oxidasa, katalasa, citlivost k cefalotinu, rezistence k nalidixové kyselině)
 - o dechový test – založený na podání močoviny obsahující značený izotop uhlíku. V případě positivity je urea rozložena a značený CO₂ je registrován ve vydechovaném vzduchu.
 - o dále průkaz helicobakterového antigenu ve stolici metodou ELISA.
- Nepřímý průkaz – detekce IgG, IgA testem ELISA

7. Čeled Vibrionaceae

- do čeledi *Vibrionaceae* patří dva rody: *Vibrio* a *Photobacterium*
- čeleď *Vibrionaceae* má polární bičíky, pozitivní oxidasovou reakci, tím se liší od čeledi *Enterobacteriaceae* (ta má peritrichální bičíky (kolem celého těla) a negativní oxidasovou reakci)

Rod Vibrio

gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky

- rod *Vibrio* má více než 60 druhů
- klinicky významné druhy (asi 12) podobné čeledím *Enterobacteriaceae* a *Pasteurellaceae*

morfologie:

- krátké, většinou zahnuté nesporulující G- tyčinky
- obvykle pohyblivé pomocí jednoho polárního bičíku

odolnost:

- citlivá na vyschnutí, kyselé pH, desinfekci a teplotu nad 60 °C

kultivace:

- na běžných půdách při 20 °C, patogenní druhy také při 30-37 °C

fyziologie, biochemie:

- oxidasapozitivní, katalasapozitivní (kromě *V. metschnikovii*)
- zkvašují glc, některé produkují plyn
- růst stimulován 0,5-3% NaCl = halofilní; vůči vyšším koncentracím NaCl jsou odolné
- alkalofilní – využívá se v diagnostice, pH optimum je 6,5-9,0, u *V. cholerae* i 10, v kys. prostředí rychle hynou
- produkce extracelulárních enzymů: proteasy, amylasy, lipasy, fosfolipasy, chitinasy, DNA-asy, díky nim snadno pronikají hlenem k povrchovým tkáním hostitele, ty pak kolonizují
- některé mořské druhy produkují luciferasu => světélkují

patogenita:

- velmi rozšířené ve vodách v teplejších oblastech
- způsobují průjmy po požití kontaminované vody
- infekce ran, uší, septikémie
- nejvýznamnější – cholera

epidemiologie:

- ve vodách přežívají i několik let, bez ztráty virulence
- v brakických a slaných vodách
- infekce z požití kontaminované vody nebo korýšů
- některé patogenní pro mořská zvířata a ryby

diagnostika:

- pozitivní test na oxidasu
- test vibriostatický: vibria jsou citlivá k vibriostatické sloučenině O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridin). Tento test se používá k odlišení vibrií od aeromonád a pseudomonád
- String-test: k určení vibrií a jejich odlišení od aeromonád, kolonie předpokládaného vibria se na sklíčku smíchá s 0,5% roztokem deoxycholátu sodného, vibria lyzují a uvolňuje se jejich DNA. Při vytáhnutí kličky z kapky směsi se mezi kličkou a kapkou vytvoří vlákno (string)
- agar TCŽS: půda s thiosulfátem, citrátem, žlučí a sacharosou, kolonie žluté až zelené

Vibrio cholerae

morfologie, fyziologie:

- krátké, G- tyčinky, zahnuté do tvaru typografické čárky

biochemie:

- laktosanegativní
- citlivé na vibriostatikum O/129

antigeny:

- somatický antigen O - sérotypizace *V.cholerae* na 155 O-typů
 - nejvýznamnější O1 a O139 (Bengal), které vyvolávají epidemickou cholera
 - ostatní se označují jako neaglutinující „non-O1/O139“
- bičíkový antigen je společný

biotypy:

- *V.cholerae* O1 → 2 biotypy spojené s lidskými nemocemi:
 1. biotyp El Tor – vyšší procento asymptomatických případů, lépe přežívá v prostředí, na krevním agaru hemolyzuje, smrt jen 1-3%
 2. biotyp klasický - méně asymptomatických případů, hůře přežívá v prostředí, na krevním agaru nehemolyzuje, smrt bývala v 50% případů

patogeneze:

- *V. cholerae* požit s větším množstvím vody nebo potravou, dokáže překonat kyselé pH v žaludku, k infekci stačí 10^6 bakterií
- je toxigenní, neinvazivní
- v tenkém střevě pomocí mucinů a proteolytických enzymů proniká hlenem a adhezuje k enterocytům, kde se množí (neinvaduje však do jiných tkání). Adhérovaná vibria tvoří enterotoxin cholera, ten se ireverzibilně váže k epitelovým bb. (receptorem pro cholera jsou sialogangliosidy) a tím v těchto epitel. bb. aktivuje adenylátcyklu => ↑ produkce cAMP a mění se propustnost buněčné stěny => Cl^- a H_2O transportovány do lumina střeva a zablokováno vstřebávání Na^+ => ztrácí se izotonická tekutina a ionty => dehydratace, acidóza => smrt
- cholera toxin: 2 podjednotky: B – má 5 identických částí, odpovědná za vazbu ke gangliosidovým receptorům na povrchu bb.
A – zvyšuje hladinu cAMP
- mucinasa usnadňuje průnik bakterie hlenem
- další toxické proteiny – od cholera se liší tím, že nejsou neutralizovány protilátkami proti cholera
- imunita vázaná na protilátky hlavně sekreční (antitoxické, antibakteriální)

patogenita:

- *V. cholerae* O1 → asymptomatické až velmi výrazné infekce
- inkubační doba: několik hodin až 6 dnů
- klasická cholera (cholera asiatica):
 - prudká gastroenteritida s celkovou intoxikací organismu.
 - nástup nemoci je bouřlivý, z plného zdraví náhlé průjemy, úporné zvracení.
 - vodnatá stolice s vločkami hlenu a odloupaná sliznice připomíná rýžovou polévku,
 - rychle dochází k dehydrataci (během 12 hod ztráta až 10 litrů tekutin), ztrátě elektrolytů, šok → křeče v lýtkách, anurie, pokles krevního tlaku, teploty, cyanóza, ztráta turgoru; v několika hodinách až dnech může vést ke smrti
 - nákaza biotypem El Tor je mírnější, úmrtnost 1-3% (u klasické až 50%)

epidemiologie:

- Indie, Čína, z nich zavlečena do zbytku světa
- nyní sedmá pandemie cholery, od roku 1962; u nás naposled 1970 na Slovensku
- rezervoár v endemických oblastech - vodní toky, nádrže, moře
- zdroj infekce: pouze člověk - nemocný, rekonvalescent, bacilonosič (1 měsíc)
- vibria ve zvracích a stolici
- očkování: 2 typy vakcín - inaktivovaná a perorální atenuovaná, obě nespolehlivé

odolnost

- v nepříznivých podmínkách přežívají vibria ve stavu, kdy je nelze kultivačně prokázat, za příznivých okolností se pak vrací do své plně aktivní formy
- citlivá na vyschnutí, kyselé pH, dezinfekční prostředky, teplotu nad 60°C
- ve stolici a vodě přežívají 3 týdny; na předmětech a potravinách několik dní až týdnů; v ledu 6 týdnů

diagnostika:

- anamnéza – pobyt v epidemiologicky významných oblastech (tropy, subtropy, Indie, Asie, Afrika) + typický klinický obraz
- vzorky stolice nutno odebrat v akutní fázi před použitím ATB
- rychlá presumptivní detekce (mikroskopie vzorku v temném poli) → rychlé, vystřelující nebo kmitavé pohyby charakteristické pro *V.cholerae*. Kapka anti-O1-séra tyto vibria rychle imobilizuje
- všechny patogenní druhy rostou dobře na TCŽS agaru (půda s přidavkem thiosulfátu, citrátu, žluči, sacharosy). Barva kolonií je žlutá, přes žlutozelenou až k zelené.
- TCŽS agar je předepsán pro izolaci vibrií ze vzorků stolice. *V. cholerae* roste i na běžných půdách, takže pro záchyt ze vzorků jiných než stolice je možné použít i krevní agar.
- rychle se množí v alkalické peptonové vodě (pH 8,6), kde tvoří povrchovou blanku, patrná už po 6 hod
- potvrzení diagnózy: průkaz oxidasy a aglutinace kolonií nebo blanky s cholerovým anti-O1-sérem
- rychlý průkaz cholerového toxinu ze vzorku stolice: ELISA, latexová aglutinace

terapie:

- gentamicin, chloramfenikol, tetracyklin (na tetracyklin rezistence v oblastech s častým výskytem cholery)
- náhrada tekutin, elektrolytů, nejlépe parenterálně, popř. perorálně (velké množství případů, chudé oblasti)

sérotyp *Vibrio cholerae* O139 (Bengal)

- serotyp Bengal podle pacientů z Bengálska (Bangladéš)
- infekce klinicky nerozlišitelná od infekce *V. cholerae* O1
- produkuje extracelulární enzymy (hemoliziny, cytotoxiny, enterotoxiny), ale jejich schopnost kolonizovat střevní sliznici není tak výrazná jako u O1
- některé kmeny mají gen pro choleratoxin (=choleragen)
- odlišení od *V. cholerae* O1 pouze sérologicky – sklíčkovou aglutinací se specif. anti-O-séry
- terapie: citlivost na tetracyklin; dehydratace

sérotyp NAG *Vibrio cholerae* (non-agglutinating vibria; non-O1/O139)

- biochemicky nerozlišitelná od *V.cholerae* O1
- výskyt ve slané i sladké vodě
- kontaminují potraviny a zde se množí
- produkce exotoxinů (hemoliziny, hemoragický faktor), i cholerový enterotoxin
- průjmy a extraintestinální až systémová onemocnění
- neschopnost adherence k epitelovým bb. → neudrží se ve střevě → průjmy jen lehčího charakteru

druh *Vibrio mimicus*

- biochemická podobnost s *V. cholerae* → název mimicus
- nehlofilní, zřídka původcem průjmů
- z mořských plodů (syrové ústřice)

druh *Vibrio parahaemolyticus*

- halofilní, k růstu potřebuje více než 2% NaCl
- výskyt v mořské vodě, v sedimentech, v planktonu, patogen mořských garnátů
- u člověka vyvolává dva typy onemocnění
 - krátkodobé akutní krvavé průjmy - po požití málo uvařených ryb, Japonsko
 - extraintestinální infekce (např. infekce ran)
- roste na TCŽS agaru – zelené kolonie
- štěpí ureu
- produkuje termolabilní enterotoxin a toxický termostabilní hemolysin (lyzuje lidské erytrocyty)

druh *Vibrio vulnificus*

- infekce ran, septikémie, infekce imunokompromitovaných pacientů, gastroenteritidy
- ze syrových mořských plodů, kontakt ran s mořskou vodou
- podmíněně patogenní
- halofilní – potřebuje 0,5% NaCl, toleruje 6%NaCl
- produkuje cytotoxiny

druhy *Vibrio fluvialis*, *furnisii*, *hollisae*

- průjmy, akutní gastroenteritidy, infekce ran

druhy *Vibrio carchariae*, *cincinnatiensis*, *metschnikovii*, *alginolyticus*, *damisela*

- halofilní, mořská voda
- infekce ran, kůže, septikémie, meningitidy
- jediný ze všech *V. metschnikovii* neprodukuje oxidasu
- *V. alginolyticus* – infekce uší, konjunktivitidy, nitrolebeční infekce, popáleniny, moř. Voda
- *V.damisela* – rychle nekrotizující infekce ran, septikémie, exotoxin D-fosfolipasa,

8. Rod *Salmonella*

gramnegativní fakultativně anaerobní nesporující tyčinky

- **objevení Salmonely:** rok 1885 – dr. T. Smith, v ústavu veterinární mikrobiologie D. E. Salmona
- *Salmonella* často slouží jako modelový organismus, např. při Amesově testu mutagenity

Rozdělení a taxonomie:

- patří do čeledi *Enterobacteriaceae*
- známo přes 2000 „druhů“
- podle nové taxonomie: 2 druhy s několika poddruhy
- pojem sérovar = antigenní determinanta, v rámci jednoho druhu i více sérovarů
- všechny salmonely významné pro člověka patří do prvního druhu *Salmonella enterica* a většinou do poddruhu *Salmonella enterica* ssp. *enterica*, (ssp. = subspecies, poddruh)
- **praxe: namísto kompletního názvu *Salmonella enterica* ssp. *enterica* sérovar *Typhi*, se uvádí *Salmonella Typhi* (to, že nejde o druhové jméno, ale o sérovar, vyjadřuje velké písmeno na začátku a absence kurzívy)**

praxe v klinické mikrobiologii:

- 1.) antropopatogenní = sérovary infikující výhradně člověka, původci závažných systémových onemocnění (tyfus, paratyfus) = *S. Typhi*, *S. Paratyphi*
- 2.) primárně zoopatogenní kmeny – způsobují převážně průjemová onemocnění (salmonelózy), člověka nakazí jen náhodou, mají často své typické zvířecí hostitele, u kterých způsobí systémové onemocnění – např. *S. Typhimurium* – tyfus u myší, pod. lidskému tyfu

1. Primárně zoopatogenní salmonely

taxonomie: sérovary: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*

morfologie:

- gramnegativní nesporující tyčinky
- dlouhé 2 - 3 μm a tlusté 0,5 – 0,8 μm
- málo se liší od jiných gramnegativních tyčinek ze své čeledi *Enterobacteriaceae*
- většinou pohyblivé
- dobře snášejí selenové sloučeniny - rostou na selenitovém bujónu (tekutá selektivně pomnož. půda)

odolnost vůči zevním vlivům, vyšetření:

- cílené (zpravidla kontrolní) vyšetření na salmonely – povoleno používat suchý tampon bez transportního média, protože salmonely jsou dobře odolné vůči zevním vlivům
- běžné vyšetření stolice - očekáváme i méně odolné bakterie (např. *kampylobakter*), proto nutné transportní médium
- odolnost vůči teplotě: hubí je 60°C, ale je třeba myslet na to, že teplota uprostřed potravin (knedlíku, vejce) je zpravidla mnohem nižší než na povrchu

biochemické vlastnosti:

- typické je štěpení manitolu; štěpení glukózy za tvorby plynu
- využívají citrát
- produkce sirovodíku – to se projeví na selektivně diagnostických půdách XLD (xylosa-lysin-deoxycholat) a MAL, kde salmonely rostou v bezbarvých koloniích s černým středem

patogenita

- většinou klasická střevní infekce bez komplikací
- inkubační doba: 12 hodin až 5 dnů, nejčastěji 24 až 48 hodin
- průjemy s velkou frekvencí stolic, bez krve ve stolici
- téměř vždy horečka, někdy zvracení
- příznaky přetrvávají 2 dny až 1 týden, onemocnění pak většinou spontánně odezní
- u malých dětí a starších lidí hrozí salmonelová seps, často smrtelná
- další možné komplikace: metastatická infekce aterosklerotických plátů a kloubních protéz, osteomyelitida, hnisavá artritida, meningitida
- **k infekci nutná vysoká infekční dávka: $10^5 - 10^8$ bakterií**

patogeneze:

- bakterie se vážou na mikrokilky ve střevě (hlavně v ileu) - specifické adhesiny na bakteriálním povrchu se vážou na receptory ve střevě obsahující mannosu.
- následuje degenerace mikrokilků, salmonely pronikají i do buněk a množí se v nich
- množí se také v makrofázích Peyerových plaků (na rozdíl od shigel a někt. escherichii se nemnoží v cytoplasmě, ale přetrvávají ve fagosomálních vakuolách, proto je množení pomalejší).
- část salmonel proniká do lokálních lymfatických uzlin

diagnostika:

- kultivačně nenáročná
 - Endův agar - laktosa negativní kolonie
 - bledé kolonie s černým středem na půdách XLD (xylosa-lysin-deoxycholát) a MAL
 - typický vzhled na: DC agar (deoxycholát-citrátový), SS agar (Salmonella-Shigella)
- vhodné je předchozí pomnožení v selenitovém bujónu
- jisté určení salmonel: kultivace na půdách + biochemie + aglutinace, aglutinací se zjistí i sérovar

epidemiologie:

- u nás nejběžnější původce střevních nákaz
- typická fekálně-orální infekce
- přenos vyžaduje potravinu jako vehikulum (ovšem vehikulem nemusí být jen zmrzlina, majonézy, krémové zákusky, ale i nevaječná jídla kontaminovaná sekundárně)
- přenos z člověka na člověka vzácný
- zdroj infekce: vodní drůbež, ta se nakazí od racků a holubů
- nákaza lidí spíše z vajec (u kampilobaktera nákaza spíše z masa)
- ke vzniku symptomatické infekce je potřeba velkého množství bakterií ($10^6 - 10^8$) – inaktivace žaludeční kyselinou
- prevence: hygiena rukou při přípravě potravin, dostatečná tepelná úprava pokrmů

- léčba:

- NE ATB – ATB sice zkrátí dobu klinických příznaků, ale prodlouží dobu vylučování salmonel,
 - ATB se používá jen u mimostřevních komplikací
 - roste počet polyrezistentních kmenů u Typhimurium, hlavně k ampicilinu
- průjem zpravidla sám odezní, pomoci mohou:
 - probiotika (potraviny obsahující složky střevní mikroflóry)
 - prebiotika (substráty, na kterých se střevní flóra může množit)
 - symbiotika (kombinace probiotik a prebiotik) – bílé jogurty, kysané zelí
- prevence: dostatečné mrazení a vaření potravin, křemičitan sodný při nakládání vajíček

2. Primárně antropopatogenní salmonely

taxonomie: sérovary: S. Typhi, S. Paratyphi A, B, C

morfologie a biochemické vlastnosti stejné jako u zoopatogenních – viz tam

antigenní struktura:

- O a H-antigeny
- S. Typhi má O-antigeny typů 9 a 12; H-antigen typu D
- zvláštní je pouzderný antigen Vi, je typický pro tyfus
- zkřížená reakce mezi antigeny tyfu a trichinel

patogenita a patogeneze:

Břišní tyfus, paratyfy

- vnik střevem, avšak střevní příznaky nevýrazné - průjem obvykle nebývá (u zoopatogenních výrazné příznaky)
- inkubační doba je 10-14 dní: množí se v mezenterických mizních uzlinách a čekají na vhodnou příležitost, aby se dostali přes ductus thoracicus do krevního řečiště
- následuje primární bakteriémie: vysoké, septické teploty trvající týden až dva, bolesti hlavy (odtud český název hlavnička), růžové skvrny na kůži
- v době bakteriémie se vylučují i močí (pro diagnostiku má ale větší význam hemokultura)
- někdy (2-5% případů) se nacházejí ve žlučníku a žlučových cestách, to vede k dlouhodobému až celoživotnímu nosičství tyfu, eradikace obtížná
- infikovaná žluč přináší salmonely zpět do střeva, rozvíjející se buněčná imunita vede hlavně v Peyerových placích k zánětlivé reakci, komplikace této reakce: intestinální hemoragie a perforace střeva
- infekce také v jiných orgánech - játra, slezina, ledviny a kostní dřeň
- mortalita neléčeného tyfu pod 20%
- u paratyfu příznaky mírnější, jen průjem častější
- pozor: něco jiného je skvrnitý tyfus způsobený *Rickettsia provazekii*

patogenita z Povýšila

- vniká do těla trávicím ústrojím. Bakterie proniknou do lymfatické tkáně střeva, kde se pomnoží a vstupují do lymfatických cest a krevního oběhu. Z krve jsou vychytávány makrofágy zejména v játrech, odkud se vylučují do žluči a zpět do střeva. Ve žlučníku salmonely přetrvávají dlouhou dobu. Při pomnožení tyfových salmonel a nahromadění endotoxinu vypukne klinické onemocnění charakterizované vysokými teplotami a průjmy.
- morfologický obraz ve střevě se rozděluje na 4 stadia, která korespondují se čtyřtýdenním průběhem nemoci:
- 1. Stadium dřevňové infiltrace.
 - vyznačuje se zduřením střevní lymfatické tkáně s výraznou prominencí folikulů a Peyerových plátů do lumina.
 - mikroskopicky jsou patrné tzv. tyfové buňky - jednojaderné nebo vícejaderné makrofágy, v jejichž plazmě jsou mikroorganismy. Tyfové buňky tvoří difúzní infiltrát nebo uzlíkovité formace - tyfomy, které jsou zvláště výrazné i mimo střevní trakt, v lymfatických uzlinách, játrech a slezině.
- 2. Stadium nekrózy a příškvarů.
 - koagulační nekróza postupuje od povrchu sliznice v místě infiltrovaných folikulů do hloubky a zachvacuje celou dřevňově infiltrovanou tkáň.
 - nekrózy vzniklé vlivem toxinů se též vyskytují v lymfatických uzlinách a ve slezině.

- 3. Stadium zvředovatění.
 - začíná ohraničením nekrotického ložiska zónou leukocytů, které se objevují teprve v této fázi zánětu. V počáteční fázi tyfu endotoxiny způsobují leukopenii.
 - po odloučení nekrotické tkáně vznikají tyfové vředy oválného nebo pásovitého tvaru podle toho, zda vznikly na základě folikulů nebo Peyerových plátů.
- 4. Stadium hojení vředů.
 - Vředy se vyčistí a postupně vyplní granulační tkání, která je nahrazena jizevnatým vazivem. Nejčastěji je postiženo ileum.
- komplikací tyfu ve střevě může být perforace střeva a krvácení do střeva.
- morfologické změny mimo střevní trakt jsou pestré a zahrnují zvětšení uzlin a sleziny, proliferaci Kupfferových buněk v játrech, tyfovou roseolu v kůži a pozdní tyfové hnisání, které nejčastěji postihuje žlučové cesty a kostní systém (hnisavá tyfová periostitida a osteomyelitida).

laboratorní průkaz:

- v období bakteriémie lze *S. Typhi* vypěstovat z krve a moči, později z kostní dřeně
- stolice nemusí být pozitivní
- kultivace na selektivně diagnostických půdách - sérotypizace
- nepřímý průkaz: aglutinační Widalova reakce s různými tělovými i bičíkovými antigeny – pozitivní je pokud: 1.sérum reaguje i stokrát zředěné a 2.pozitivní musí být reakce s tělovými i bičíkovými antigeny; není dostatečně spolehlivá

epidemiologie:

- typicky v zemích se sníženou hygienou, souvisí s kontaminací vodních zdrojů
- v ČR ne
- prevence – mytí rukou, hygiena pitné vody (balená, převařená), hygiena stravování

léčba:

- ATB: fluorochinolony, ko-trimoxazol, ampicilin, komplikované případy chloramfenikolem
- bacilonosičství - někdy potřeba chirurgická sanace (cholecystektomie)

9. Rod Shigella

gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky

objevení: 1897 – Japonec K. Shiga

morfologie:

- typické enterobakterie, ale nepohyblivé, z enterobakterií nejméně odolné vůči zevním vlivům
- neopouzdržené

biochemické vlastnosti:

- málo aktivní
- těžko odlišitelné od neaktivních či opožděně aktivních kmenů *E. coli* – odlišitelné tím, že Shigelly: 1. jsou nepohyblivé, 2. při štěpení glukózy netvoří plyn
- nefermentují laktosu (laktosanegativní kolonie na Endově a McConkeyho agaru)

antigeny:

- O-antigeny: pomocí nich lze typizovat Shigelly, i je od sebe odlišit
 - 4 druhy: *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. boydii*
 - s výjimkou *S. sonnei* mají všechny ostatní několik antigenních typů.
 - biochemicky se druhy mezi sebou rozlišují špatně

patogenita:

- Bacilární úplavice = shigelóza
 - intenzivní vodnatý průjem, tenesmy = frekventní neovladatelná nucení na stolic, ale neuspokojivé vyprázdnění (pocit, že „musí“, ale není co...)
 - hlen a hnis ve stolici, při ulceraci střeva i krev
 - křeče v břiše, horečka, slabost
 - (!úplavice parazitární - způsobuje ji *Entamoeba histolytica*)

patogeneze:

- invaze do buněk tlustého střeva, intracelulárně se množí. Buňky jsou poškozeny za vzniku nekrózy a vředu
- invaziny Ipa (=invasion plasmid antigen) – zprostředkovávají invazi, vážou se na integriny na povrchu M-buněk Peyerových plaků a poté i střevních epitelů
 - podrobněji: střevní epitelie mají integriny jen na své bazální části, odvrácené od lumen střeva.
 - předpokládá se, že nejprve jsou shigelly pohlceny M-buňkami Peyerových plaků (M buňky obsahují integriny i na lumenálním povrchu), ke střevním epitelům se shigely dostanou odspodu, asi přenášeny střevními mikrořasy.
 - po pohlcení vyvolají shigelly kolem fagocytární vesikuly rozsáhlou reorganizaci aktinových vláken, vesikula praská, shigella z ní uniká a v cytoplasmě se rychle množí a do okolí secernuje proteiny → na jednom konci bakterie se polymerují aktinová vlákna, vytvářejí strukturu podobnou ocasu komety a protlačují shigellu skrze buňku a pak přes buněčnou membránu do sousední buňky
- hlubší průnik do tkání vzácný, bakteriémie a systémové onemocnění u běžných kmenů většinou nevzniká
- podobný průběh má infekce kmeny EIEC *E.coli*
- u některých kmenů *S. dysenteriae* se navíc uplatňuje shiga toxin
 - účinky enterotoxické, neurotoxické, cytotoxické (analogie s STEC *E.coli*)
- infekční dávka mnohem nižší než u salmonelózy, jen asi **100 bakterií**
- inkubační doba delší než u salmonelózy: 3-7 dnů

diagnostika:

- kultivace, biochemický průkaz, antigenní analýza
- identifikace nejčastěji kombinací biochemických a sérologických testů (O antigeny)
- laktosa negativní

epidemiologie:

- čistě lidský patogen (na rozdíl od salmonely)
- většinou se nepřenáší alimentárně, průvodce nemá schopnost se v potravinách moc pomnožit
- přenos především špinavýma rukama, přenáší se hlavně v kolektivech s obtížně udržitelnou hygienou (dětské tábory, sociální ústavy, psychiatrické léčebny apod.) + zavlečení z epidemiologicky významných oblastí
- dříve i epidemie z kontaminované vody (dnes účinné kontroly pitné vody)
- u nás vzácnější než salmonela

léčba:

- rehydratace, Endiaron (střevní dezinficiens)
- ATB: ko-trimoxazol, výjimečně fluorochinolony

10. Rod *Escherichia*

gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky

- *E.coli* je nejznámější mikrob, modelový organismus - na ní prokázána bakteriální konjugace a replikace DNA, do jejího genomu vložen lidský inzulin, interferon, geny kódující antigeny jiných mikrobů (což vede ke vzniku rekombinantních vakcín); agar s *E.coli* se používá pěstování některých améb

objevení: 1885 – Theodor von Escheria, rakouský lékař a bakteriolog

taxonomie:

- patří do čeledi *Enterobacteriaceae*
- druhy: *E.coli* (nejčastější), další druhy člověka napadají jen velmi výjimečně (*E.vulneris*, *E.hermannii*, *E.albertii*)

morfologie:

- neliší se od jiných enterobakterií, je pohyblivá

odolnost proti vnějším vlivům:

- poměrně dobrá

biochemie:

- průměrně aktivní
- štěpí glc a laktosu za tvorby plynu
- tvoří indol
- neštěpí močovinu
- problémem mohou být kmeny s opožděnou sacharolytickou aktivitou, na půdách s laktosou se mohou jevit jako laktosa negativní

antigenní struktura:

- OHK systém (viz Obecné vlastnosti enterobakterií)
- kmeny vybavené určitými faktory virulence jsou zpravidla zodpovědné za určitý typ patogenního působení

patogenita a patogeneze:

- *E.coli* běžná součást střevní mikroflóry zdravých lidí
- komenzál, symbiont (svým působením znemožňuje průnik patogenů – produkuje tzv. koliciny, toxické pro jiné bakterie; dále produkuje vitamín K), částečně saprofyt (organismus žijící na odumřelých organických substancích)
- podmíněně patogenní mikrob, způsobuje chorobné stavy – ve střevě je to možné jen pokud má specifické faktory virulence, mimo střevo téměř vždy patogenní

patogenní působení ve střevě:

1. EPEC – Enteropatogenní *E.coli*

- disponují faktory virulence, které vedou ke vzniku novorozeneckých průjmu
- nejznámější antigenní typy: O55, O111, O126, O86 a další
- adherují na střevní sliznici (někdy pojem EAEC = enteroadherentní *E.coli*)
- několik efektorových molekul je sekrečním systémem III. typu dopraveno skrz bakteriální bun. stěnu, a následně vpraveny do eukaryontní buňky
- vyvolaná katarální enteritida vede k profuznímu průjmu, dehydratace nastává již během několika hodin a může mít fatální následky

2. ETEC - Enterotoxigenní E.coli

- nejsou přímo vázány na určité sérotypy
- produkují dva typy enterotoxinů:
 - **ST = tepelně stabilní**
 - malá molekulová hmotnost, není imunogenní
 - 2 třídy, jedna aktivuje guanylátcykladu => ↑ cGMP, mechanismus druhé formy nejasný
 - **LT = tepelně labilní**
 - kódován plasmidem, 2 podjednotky
 - aktivuje membránovou adenylátcykladu, což vede k mohutné produkci cAMP buňkami => hypersekrece vody a elektrolytů do lumen střeva, vodnatý průjem, jako u cholery,
 - LT je imunogenní
- nejčastější příčina průjmů v rozvojových zemích, cestovatelské průjmy

3. EIEC - Enteroinvazivní E.coli

- disponuje faktory invazivity, které umožňují invazi do sliznice tlustého střeva
 - obsahuje velký plasmid, nesoucí geny pro expresi proteinů vnější membrány, které jsou nezbytné pro invazi do sliznice
- krvavé průjmy, stejné jako shigelové
- na sliznici tlustého střeva způsobují vředovité defekty, často kryté fibrinovou pablánou; probíhá jako horečnaté průjemové onemocnění s bolestivými tenezmy, krví a hlenem ve stolici
- všechny aminokyseliny jsou využity ve prospěch bakteriálního metabolismu a nikoliv ve prospěch buněk hostitelského organismu
- významný také manosa-rezistentní nefimbriální adhesin = hemaglutinující faktor (HAF)
- nejběžnější sérotyp je O124

4. STEC - Shiga-like toxigenní E.coli (EHEC – enterohemoragické E.coli)

- nejzávažnější, struktura toxinu i průběh infekce jsou velmi podobné jako u některých kmenů Shigel
 - dříve verotoxigenní = VTEC - podle účinku na bun. kulturu Vero
- vyvolávají těžké průjmy s hemoragií,
- následně dochází k systematizaci infekce, vzniká hemolyticko-uremický syndrom
- zdroj infekce: hovězí dobytek, vehikulum je většinou maso (tepelně málo opracované hamburgery)
- nízká infekční dávka - 10 bakterií
- problematická léčba - použití ATB vede k uvolnění toxinů z bakterií, takže ATB se nedoporučuje
- nejběžnějším sérotypem je O157:H7

5. EAggEC - Enteroagregativní E.coli

- v Asii, cestovatelské průjmy
- gen aggR – zodpovědný za virulenci

6. DAEC - Difusně adherentní E.coli

- mají tzv. afa operon, jeho nejdůležitějšími produkty jsou AfaD invazin (u všech stejný) a AfaE adhezín (variabilní), ten se vždy váže na hostitelský protein DAF

- **patogenní působení mimo střevo:**

1. UPEC - Uropatogenní E.coli

- původce močových infekcí, ale ne každý kmen *E.coli*, který vyvolává močové infekce je UPEC
- specifické faktory virulence - adhesiny k vazbě na epitelie močových cest
- *E.coli* je nejčastějším původcem uroinfekcí (u komunitních až v 80%, u nozokomiálních méně, tam zejména klebsiely)
- projevuje se polakisurií (časté nucení na močení), dysurií, hematurií a pyurií; bolest v bederní krajině
- může vyústit do bakteriémie a sepse

2. kmeny nejednoznačně pojmenované

- dýchací infekce, sepsy, infekce ran, novorozenecké meningitidy
- zejména u hospitalizovaných pacientů, u kterých normální obranné mechanismy často selhávají, a mikroby se i bez specifických faktorů virulence mohou šířit po celém těle

diagnostika:

- kultivace na široké škále půd
- za ideálních podmínek generační doba 20 minut
- Endův agar: nápadná purpurová barva kolonií a jejich okolí
 - v laktosapozitivních koloniích mohou růst i jiné enterobakterie, proto i typické kolonie z důležitých materiálů určíme dále biochemicky
- biochemie – např. při odlišení *E.coli* a klebsiely PYR-test: *E.coli* je negativní, klebsiela je poz.
- u nálezů *E.coli* ze stolice novorozenců a kojenců: nutná antigenní analýza k vyloučení EPEC, popř. EIEC, ETEC (aglutinace na sklíčku)
- diagnostika EIEC: dříve Serényiho test – prokázání invazivity mikroba na spojivkovém vaku morčete
- diagnostika STEC: neschopnost štěpit sorbitol na Mc-Conkeyho agaru, ve kterém je laktosa nahrazena sorbitolem, STEC zde vytvoří bledé kolonie, pozitivitu nutno potvrdit sérologicky;
- přímý průkaz antigenu ve vzorku metodou ELISA – rychlý, méně pracný, dražší

epidemiologie:

- přenos fekálně orálně, mimostřevní infekce často endogenního původu
- možný přenos kontaktem (poměrně dobrá odolnost)
- vyskytují se poměrně běžně v potravinách, proto cestovatelé, kteří se v cizí zemi začnou živit místní stravou, jsou obvykle brzy infikováni „místním“ kmenem ETEC = cestovatelské průjmy

léčba:

- jedna z mála enterobakterií není primárně rezistentní k ampicilinu, ale i tak počet rezistentních kmenů stoupá
- účinné jsou cefalosporiny, chráněných penicilinů (ko-amoxicilin), fluorochinolony, ko-trimoxazol
- u močových infekcí nefluorované chinolony, nitrofurantoin

11. Rody *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* a *Citrobacter*

gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky

- všechny uvedené rody patří do čeledi *Enterobacteriaceae*

1. Rod *Klebsiella*

- blízká rodu *Enterobacter*
- poměrně dobře adaptovaná na život mimo střevo (důkazem toho je pigmentace, což je jí ve střevě k ničemu)
- z vnějšího prostředí snadno proniká do různých tělních dutin
- v poslední době se stává závažným nozokomiálním patogenem (je nejčastějším producentem ESBL)
- **taxonomie:**
 - druhy: *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*
- **morfologie:**
 - typická enterobakterie
 - tendence k **polárnímu barvení**
 - **opouzdřené, nepohyblivé**
- **kultivace a odolnost:**
 - dobrá adaptace na život mimo střevo
 - **bílé pigmentované kolonie** (na krevním agaru je díky tomu poznáme od *Escherichii*), často **mukózní**
 - Endova půda: kolonie se podobají jahodové zmrzlíně
- **biochemie:**
 - biochemicky **značně aktivní**
 - od enterobakterů se odlišují **absencí pohybu a ureasovou aktivitou**
 - od *Escherichii* **pozitivním PYR-testem** (přítomnost pyrasy způsobí v testu zčervenání disku, disk se inkubuje 1-2 minuty při laboratorní teplotě)
 - ***Klebsiella oxytoca* se pozná podle tvorby indolu**
- **antigeny:**
 - významné jsou hlavně **pouzderné antigeny** působící jako faktor virulence
 - některé antigeny *Klebsiell* se podobají antigenu HLA-B27, což by mohlo být podkladem Bechtěrevovy choroby
- **patogenita:**
 - jako střevní komenzály jsou méně běžné
 - uroinfekce - 2. nejběžnější původce
 - sepsy
 - poměrně často, oproti jiným enterobakteriím
 - zejména nozokomiální
 - infekce dýchacích cest
 - způsobuje jen malou část (2 %) bakteriálních pneumonií
 - pneumonie jsou s rychlým nástupem a typickým červenohnědým sputem
 - plicní abscesy
 - nemocniční kmeny jsou nejčastějšími producenty ESBL

- patogeneze:

- systémy k exploataci železa
- u plicních infekcí je významným faktorem typ O-antigenu
 - některé typy na sebe vážou plicní surfaktant, který poté umožní jejich fagocytózu
 - jiné typy surfaktant nevážou a snadněji vyvolávají plicní infekce
- dále se v patogenezi uplatňují manosa-senzitivní fimbrie (adheze)
- pouzdro - schopnost adheze opouzdřených kmenů na epitelie střeva či močového měchýře je výrazně nižší, ale schopnost odolávat imunitní odpovědi makroorganismu je vyšší (produkci IL-6 a TNF)

- diagnostika:

- běžné metody
- kultivace (typické bílé kolonie nebo kolonie vzhledu jahodové zmrzliny na Endově půdě)
- PYR-test
- důležitý je průkaz produkce beta-laktamas

- epidemiologie:

- přenos fekálně orálně, ale i kontaktem, na krátké vzdálenosti i vzduchem

- léčba:

- na běžné kmeny: cefalosporiny, chinolony, ko-trimoxazol, tetracykliny
- nozokomiální kmeny produkující ESBL: karbapenemy, cefalosporiny IV. gen., někdy aminoglykosidy, nitrofurantoin, kolistin
- primárně rezistentní na ampicilin
- specifická prevence zatím není možná

- další klebsiely:

- *Klebsiella pneumoniae*, subsp. *ozaenae*
 - bývá izolována z nosní sliznice u onemocnění zvaného ozéna (= chronická rhinitida s progresivní atrofií sliznice)
- *Klebsiella pneumoniae*, subsp. *rhinoscleromatis*
 - bývá izolována z rinoskleromu (= chronický granulomatózní zánět HCD - nos, paranazální dutiny; příp. larynx, trachea)
 - důsledkem jsou deformity, obstrukce dýchání...

2. Rod *Enterobacter*

- enterobaktery jsou po *E.coli* druhá nejběžnější bakterie střeva
- mezi enterobakteriemi nejméně patogenní, nicméně zůstává podmíněně patogenní

- taxonomie:

- druhy *E.cloacae*, *E.aerogenes*, *E.sakazakii*, *P.agglomerans*

- morfologie:

- ideálně adaptovány na život ve střevě, na zevní prostředí už méně
- rostou dobře na běžných půdách
- pohyblivý

- biochemie:

- biochemicky poměrně hodně aktivní
- podobná aktivita jako rod *Klebsiella* – obtížná diferenciální diagnostika, enterobaktery jsou však pohyblivé

- patogenita:

- ve střevě nepůsobí infekce
- mimo střevo může působit patogenně, často endogenně
- poškození pohybového aparátu – poměrně časté

- diagnostika:

- vychází z kultivace a biochemické identifikace

- epidemiologie:

- infekce zpravidla endogenní
- výjimečně epidemie (novorozenecké meningitidy způsobené *E.sakazakii* ze sušené náhražky mateřského mléka)

- terapie:

- vyšší míra přirozené rezistence než *Klebsiella* – cefalosporiny I. a II. gen., ampicilin

3. Rod Serratia

- i když patří mezi enterobakterie, způsobem života připomínají gramnegativní nefermentující tyčinky: ve vnějším prostředí častěji než ve střevě, vzdorují desinfekci
- jsou výraznými nozokomiálními patogeny

- taxonomie:

- druhy: *S.marcescens*; *S.rubidaea*

- morfologie:

- stejná jako jiné enterobakterie
- adaptace na slunce tvorbou pigmentu (červený prodigiosin)

- odolnost a kultivace:

- jsou značně odolné
- rostou na běžných médiích

- biochemie:

- jako všechny enterobakterie si volí podle situace respiraci nebo fermentaci i respiraci
- respirace je díky jejich životnímu stylu častější než např. u enterobaktera

- patogenita:

- infekce dýchacích cest, vč. pneumonii
- infekce ran – často v nemocničním prostředí

- patogeneze:

- fimbrie - manosa citlivé i manosa rezistentní
- lipopolysacharidy
- různé enzymy, např. lipasy

- diagnostika:

- kultivace a biochemická identifikace
- charakteristickým znakem je heterorezistence ke kolistinu (to znamená, že sice nacházíme viditelnou zónu, ale uvnitř najdeme izolované kolonie)

- léčba:

- obtížná, bývají polyrezistentní
- primární rezistence na ampicilin, cefalosporiny I. a II. generace a kolistin

4. Rod *Citrobacter*

- taxonomie:

- druhy *C. freundii*, *C. koseri* (dříve *C. diversus*)

- citlivost na zevní vlivy a kultivace:

- podobná jako u jiných enterobakterií
- na Endově agaru jsou některé kmeny hodně podobné *E.coli*, jiné zase salmonelám, hořce však páchnou

- biochemie:

- může tvořit sirovodík
- může být biochemicky podobný salmonelám, ale je laktosa-pozitivní = na půdě XLD netvoří světlé kolonie s černým středem,
- občas však některé kmeny laktosu štěpí opožděně nebo vůbec ne, zpravidla si však zachovají pozitivní ONPG test

- antigeny:

- také antigenně mohou zkříženě reagovat se salmonelami
- existují i zkřížené reakce s STEC *E.coli*

- patogenita:

- podmíněný patogen ve střevě, občasný v močových cestách
- bakteriémie, endokarditidy, meningitidy (i novorozenecké), mozkové abscesy, osteomyelitidy u dětí – ke všem těmto komplikacím dochází často po primární intraabdominální infekci, která může být důsledkem neinfekčních procesů (žlučové kameny, nádory v dutině břišní)

- patogeneze:

- mezi faktory virulence patří aerobaktinový systém získávání železa
- u mozkových infekcí se uplatňuje zvýšená schopnost pronikat hematoencefalickou bariérou

- diagnostika:

- převážně biochemická
- při pochybnosti zda se jedná o citrobaktera (opožděně štěpícího laktosu), nebo salmonelu můžeme použít ONPG test (detekce beta-galaktosidasy, u citrobaktera pozitivní) nebo PYR test (detekce pyrasu, u citrobaktera pozitivní)

- epidemiologie:

- přenos fekálně-orální
- mimostřevní infekce jsou zpravidla endogenní

- léčba:

- primární rezistence k cefalosporinům I. generace
- účinný bývá co-amoxycilin, v závažných případech i cefalosporiny III. generace
- přibývá kmenů produkujících ESBL - často jde sice o málo virulentní kmeny, ale jejich geny kódující rezistenci mohou být přeneseny na virulentní kmeny jiných enterobakterií
- alternativně: chinolony, aminoglykosidy, co-trimoxazol, bohužel se ale vyskytují i polyrezistentní kmeny

12. Rody *Proteus*, *Providencia* a *Morganella*

- obecně se jedná o bakterie s mohutnou biochemickou (především proteolytickou) aktivitou
- jde o saprofyty dokonale přizpůsobené k likvidaci organických zbytků
- hnilobný rozklad mrtvoly zahajují střevní mikroby – proteolytická klostridia, pokračují fakultativně anaerobní bakterie, zejména rod *Proteus* (tvoří mj. oxid uhličitý, amoniak a sirovodík)
- **taxonomie:**
 - původně všechny spadaly pod jeden rod *Proteus*
 - v současnosti byla pro ně vytvořena zvláštní taxonomická jednotka - tribus *Proteae*
 - druhy:
 - *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*
 - *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*
 - *Morganella morganii*
- **morfologie:**
 - neliší se od jiných enterobakterií
 - výrazná pohyblivost (zejm. u rodu *Proteus*) - přítomnost většího počtu bičíků po celém povrchu
- **odolnost:**
 - dobrá odolnost vůči podmínkám ve střevě i v prostředí
- **kultivace:**
 - na všech běžných půdách
 - rod *Proteus* na krevním agaru a Endově půdě vykazuje tzv. Raussův fenomén:
 - z místa inokulace se plazí v podobě koncentrických kruhů po povrchu agaru = Raussův fenomén (fenomén příbojové vlny)
 - během dne přeplazí Petriho misku, může překrýt další patogeny, které vzorek obsahoval
 - lze ho pozorovat na krevním agaru, v menší míře i na Endově agaru; nikoli však na McConkeyho půdě
- **biochemie:**
 - biochemicky vysoce aktivní, hlavně proteolýza (příčina mohutného zápachu připomínající maggi)
 - výrazná ureasová aktivita, deaminace fenylalaninu, tvorba indolu (výjimkou je *Proteus mirabilis*), zástupci rodu *Proteus* tvoří sirovodík
- **antigenní struktura:**
 - uplatňuje se OHK-systém
 - *P. vulgaris* O1 a O2, *P. mirabilis* O3 aglutinují se séry nemocných rickettsiosami (Weilova-Felixova reakce)
- **patogenita:**
 - přítomny u lidí (ne u všech) ve střevě jako součást běžné mikroflóry
 - patogenně působí hlavně mimo střevo - v močových cestách, ranách, dekubitech
 - ve střevě mohou způsobovat potíže při narušení rovnováhy běžné mikroflóry (např. průjemy u dětí)
 - ohroženi jsou hlavně novorozenci, imunosuprimovaní a onkologičtí pacienti (případ morganelové sepse u pacienta s Hodgkinovým lymfomem)
 - popsána byla i seps *Morganella morganii* způsobená přenosem z matky na dítě během porodu

- virulence:

- mezi faktory virulence patří hlavně výrazná ureasová aktivita - tvořící se amoniak z močoviny dráždí sliznice a alkalizuje moč, což přispívá k tvorbě močových kamenů
- k adherenci na epitelie napomáhají různé typy fimbrií

- diagnostika:

- velmi snadná u plazivých kmenů
- u neplazivých: charakteristický zápach, velká biochemická aktivita, rezistence na kolistin (nepříliš běžná u jiných enterobakterií)
- stačí určení jen omezeného množství biochemických vlastností – např. pozitivní fenylalanindeaminasa (*Proteus*, *Providencia* a *Morganella* jako jediné z enterobakterií)
- problém je spíše diagnóza ostatních bakterií ve směsi s protey = nutné používat selektivní půdy např. k zachytu streptokoků, které by se na běžném KA ztratily v proteové vlně
- Dienesův fenomén
 - někdy se od dvou pacientů zachytí podobné kmeny protea, a řeší se problém, zda se jedná o tentýž kmen, či nikoli (epidemiologie)
 - necháme protey plazit proti sobě
 - pokud jde o tentýž kmen, plazivé vlny v místě kontaktu splynou, pokud jde ale o dva různé kmeny, vytvoří se mezi nimi viditelná hranice

- epidemiologie:

- přenos fekálně-orální, infekce je často endogenní

- léčba:

- *Proteus* poměrně citlivý na ATB
 - primární rezistence všech proteů na kolistin - využitelná v diagnostice
 - *P.mirabilis* primárně rezistentní na nitrofurantoin, citlivý k cefalosporinům
 - *P.vulgaris* naopak primárně rezistentní k cefalosporinům I. a II gen. a citlivý na nitrofurantoin,
- *Providencia* a *Morganella* méně citlivé, nelze použít ampicilin a cefalosporiny I. a II gen.
- zvýšená odolnost proteů k desinfekci, zejm. k povrchově aktivním látkám

13a. Rod *Pasteurella*

gramnegativní nepohyblivé aerobní až mikroaerofilní kokobacily

taxonomie:

- patří do čeledi Pasteurellaceae, společně s rod *Actinobacillus* a *Haemophilus*
- 12 druhů, nejvýznamnější poddruhy druhu *P. multocida* jsou *multocida*, *gallicida*, *septica*
- další patogenní zástupci:
 - *P. aerogenes* - po pokousání prasaty
 - *P. bettyae* – izolována z abscesů bartholinských žláz, z krve novorozenců, moči
 - *P. canis* a *P. stomatis* - po pokousání psem
 - *P. pneumotropica* – infekce ran, meningitidy, endokarditidy po kontaktu se psy a kočkami

Pasteurella multocida

morfologie:

- malý G- nesporulující kokobacil s bipolárním barvením
- některé kmeny slizové pouzdro

biochemie:

- oxidasa a katalasa pozitivní
- zkvašuje pouze glc a sacharosu

patogenita:

- komenzál horních cest dýchacích u domácích zvířat; původce pneumonie skotu, ovcí, drůbeže, ale u psů a koček přirozená část nasofaryngeální flóry
- šíření infekce přímým kontaktem nebo vzácně dýchacími cestami; často kousnutím či škrábnutím zvířete
- tvorba endotoxinu vyvolává poškození tkání
- opouzdřené kmeny odolávají fagocytóze
- u člověka nejčastěji způsobují lokální infekce po kousnutí zvířetem (vzniká u 5% psích a 30% kočičích kousnutí), mezi komplikace patří abscesy, celulitida, osteomyelitida nebo septická artritida
- dále způsobují pneumonie, méně endokarditidy, meningitidy, infekce venosních katetrů, subdurální empyémy, plicní abscesy

diagnostika:

- vyžaduje komplexní média obohacená krví
- teplotní růstové optimum je 37°C
- krevní agar: malé nehemolytické duhové kolonie, může tvořit však i velké mukózní kolonie bohaté na kyselinu hyaluronovou
- typická široká zóna inhibice kolem disku s penicilinem
- barvení dle Giemsy zvyšuje bipolaritu barvení
- důležitým diagnostickým prvkem je v anamnéze kontakt se zvířaty

léčba:

- citlivá k většině ATB, rezistentní k makrolidům
- nutné vysoké dávky ATB, nejlépe amoxicilin-klavulanát, ampicilin-sulbaktam, dále cefuroxin, doxycyklin

13b. Rod Legionella

Úvod:

- Legionely mohou být původci vážných pneumonií.
- V přírodě velice časté, vždy ve vodách – ať už v přírodních, odpadních, v chladící vodě klimatizační zařízení, v rozvodech teplé vodovodní
- Infekce poprvé zaznamenána 1976 na sjezdu amerických legionářů, klimatizací se rozšířil infekční aerosol a způsobil sérii těžkých pneumonií (zemřelo 34 účastníků sjezdu)

Rozdělení:

- několik desítek druhů, nejvýznamnější je *Legionella pneumophila*, jejíž sérotypy 1-6 způsobují až 85% všech legionelových infekcí.
- další častější druhy *L. bozemanii* a *L. micdadei*

Morfologie:

- štíhlé, pleomorfní gramnegativní tyčinky (často skoro vlákna)
- velmi špatně se barví gramem
- v jejich stěně mají unikátní mastné kyseliny, které u jiných bakterií nejsou

Kultivace:

- aerobní, kultivačně velmi náročná, neroste na KA
- vyžaduje půdu s obsahem železa a cysteinu = BCYE agar (buffered charcoal yeast extract), který navíc obsahuje ještě kvasničný extrakt jako zdroj živin a aktivní uhlí odstraňující toxické radikály
- na BCYE agaru se inkubuje týden za zvýšené tenze CO₂, současně se naočkuje KA, který zůstane sterilní
- legionely rostou v rozmezí 25-43°C, na BCYE jsou kolonie šedé, splývavé a ostře ohraničené. Kolonie *L. pneumophila* ulpívají na kličce. Pod mikroskopem mají kolonie nehomogenní vzhled, připodobňovaný k rozdrčenému sklu.
- *L. bozemanii* fluoreskuje v UV světle (využití k identifikaci)

Biochemie:

- pohyblivé
- katalasa pozitivní, cukry nefermentují, ale zkapalňují želatinu a hydrolyzují ureu.
- biochemické testy se však k identifikaci příliš nepoužívají, kmeny lze rozlišit sérologicky

Antigenní stavba:

- antigenní rozdíly zjištěny aglutinací, existuje několik desítek sérotypů legionel
- komerční testy které identifikují antigeny legionel v moči jsou vyvinuty jen pro diagnostiku *L. pneumophila* sérotypu 1, jiné sérotypy nezachycují, proto součástí diagnostického postupu by měla být vždy kultivace!

Patogenita:

- většina legionelových infekcí připadá na vrub *L. pneumophila*.
- infekce nejsou vždy symptomatické, pokud ano, nabývají 2 základních podob: Pneumonie-Legionářská nemoc, nebo Pontiatická horečka (podle města v USA)
- **Pontiatická horečka:**
 - vysoká teplota, bolesti svalů, zimnice, nevolnost.
 - onemocnění trvá jen krátce, 2-5 dní, poté spontánní uzdravení, nejsou postiženy plíce.

- **Legionářská nemoc:**

- těžké onemocnění, **bez léčby často smrtelné**, predisponovaní jsou kuřáci, staří lidé, lidé se sníženou imunitou.
- po inkubační době 2-10 dnů náhle horečka, třesavka, suchý, neproduktivní kašel, bolest na prsou, bolest hlavy a stav zmatenosti.
- postiženy také ledviny, játra, CNS, gastrointestinální systém (zvracení, průjem)
- základním projevem je však pneumonie - v plicní tkáni vznikají mikroabscesy.
- úmrtnost 15-20%, u imunokompromitovaných pacientů např. pro transplantaci kostní dřeně mnohonásobně vyšší

Patogeneze:

- fakultativně intracelulární parazit, mohou se množit v mikrofázích a monocytech.
- v nitrobuněčných vakuolách proliferují a svými enzymy (proteasy, lipasa, nukleasa, fosfatasa) dokáží po lýze vakuoly buňku zahubit.
- u nemocného se vyvine mnohočetná ložisková pneumonie, vedoucí až k lobárnímu postižení. Do plicních alveolů proniká edémová tekutina a ukládá se v nich fibrin.

Léčba:

- u imunokompromitovaných pacientů azithromycin, levofloxacin
- v lehčích případech erythromycin nebo tetracyklin.
- betalaktamová ATB účinná nejsou, legionely totiž sami produkují betalaktamasu.

Epidemiologie:

- potenciálně patogenní jsou všechny legionely, jsou rozšířeny celosvětově
- do organismu vstup převážně infikovaným aerosolem - dýchacími cestami, mezilidský přenos možný není
- vyskytují se ve vodním prostředí (klimatizace!!!) dokáží odolávat vysokým teplotám i chlorovým dezinfekčním prostředkům (parazitují v amébách, které je chrání)
- sérologické studie prokázaly, že značná část populace má vůči nim protilátky (už jsme se s legionelou někdy setkali). Pokud se vyskytne infekce, nejčastěji v letních měsících – legionely se za tepla ve vodních zdrojích pomnoží.

Laboratorní průkaz:

- kultivace na médiu BCYE, kultivuje se sputum, tracheální aspirát nebo sekční materiál (plíce, játra).
- někdy výhodné legionely z tkání prokázat stříbřením nebo imunofluorescencí.
- v moči pomocí ELISA jde zachytit legionelový antigen. (vysoká citlivost, ale je specifický jen pro příslušný sérotyp)
- nepřímý průkaz pro průkaz protilátek – nepřímá imunofluorescence, ELISA (diagnostický je čtyřnásobný vzestup titru v rozmezí dvou až tří týdnů)

14. Rod *Neisseria*

Neisserie obecně: Rod *Neisseria*

- G- aerobní koky
- většinou striktně aerobní, některé jsou schopny slabého růstu i za anaerobních podmínek

taxonomie:

- čeleď Neisseriaceae
- druhy: *N. gonorrhoeae* (gonokok), *N. meningitidis* (meningokok), a dále skupina výjimečně patogenních neisserií, které jsou normální mikroflórou úst a nosohltanu (ústní neisserie)
- klasifikace podle biologických a biochemických vlastností:
 - skupina 1 – asacharolytické, nepigmentované (gonokok, meningokok, někt. ústní)
 - skupina 2 – sacharolytické, pigmentované (zbytek ústních)

morfologie: koky, uspořádané do dvojic, na přilehlých stranách zploštělé (kávová zrna)

kultivace a odolnost:

- kultivačně náročné, nerostou na Endově agaru (některé jiné G- bakterie ano)
- ústní neisserie méně choulostivé než meningokok, ten méně než gonokok (in vivo i in vitro),
- patogenní druhy velmi citlivé na změny teploty (gonokok roste jen při 30-38,5°C) i na vyschnutí a jsou kapnofilní (vyžadují vyšší tenzi CO₂)

biochemie:

- všechny oxidasa pozitivní a katalasa pozitivní

metabolismus:

- aerobně – respirační metabolismus = přítomnost enzymů vázaných na metabolismus kyslíku – peroxidasy (katalasy) a cytochromoxidasy (oxidasy) → význam pro diagnostiku
- sacharolytická aktivita různá, zřejmě v důsledku různé míry adaptace na makroorganismus
 - ústní neisserie štěpí různé cukry
 - meningokok jen glc a maltosu
 - gonokok jen glc

antigeny:

- dílem společné pro celý rod (možná zkřížená reaktivita), dílem druhově specifické průkaz antigenů latexovou aglutinací nebo koaglutinací

diagnostika:

- zejména přímý průkaz (kultivace, mikroskopie, bioch. identifikace)
- u meningokoka i průkaz antigenu nebo DNA v klinickém vzorku
- nepřímý průkaz jen vzácně

epidemiologie:

- ústní neisserie – přenos vzduchem
- meningokok – vzduchem v kapénkách na krátké vzdálenosti
- gonokok – pouze kontaktem sliznic, hlavně pohlavních

léčba: dobrá citlivost na ATB, očkování proti meningokokovi; vliv prevence (behaviorální faktor)

Neisseria gonorrhoeae

morfologie:

- stejná jako u meningokoka
- G- lehce zploštělé koky ve dvojicích (= diplokoky) – vzhled kávového zrna
- při vyšetření materiálu in vivo mikroskopicky: gonokoky jsou intracelulárně v leukocytech (odolávají rozštěpení po fagocytóze)

kultivace:

- vyžaduje bohaté půdy
- běžně používán čokoládový agar
- v praxi se používá obyčejný čokoládový agar a agar se směsí ATB a antimykotik – ta potlačí jiné kultury
 - agar Thayer-Martin – obsahuje vankomycin, kolistin a nystatin
 - New York City medium
- předběžný výsledek po 24 hod, ale negativní výsledek lze konstatovat až po 48 hod
- kolonie jsou drobné, lesklé, lehce vypouklé, přirovnávají se ke kapce rosy

odolnost:

- velmi citlivý na složení půdy, teplotu a její změny, vyschnutí, vyžaduje zvýšenou tenzi CO₂ (kapnofil) => příčiny přenosu pouze pohlavní cestou
- špatně snášejí i slabou desinfekci, např. soli stříbra

biochemie:

- ze všech neisserií nejméně biochemicky aktivní – štěpí jen glukózu → využití v diagnostice
- katalasa- a oxidasa pozitivní

antigeny:

- v praxi nemá takový význam jako u meningokoků; v diagnostice se antigenní struktura využívá jen výjimečně
- 3 třídy antigenů:
 - W - proteiny, tvoří 3 skupiny
 - M - polysacharidy, tvoří 7 skupin
 - J

patogenita:

- obligátní patogen
- patogenní jen pro člověka
- kapavka = gonorrhoea
 - neinvazivní hnisavý zánět urogenitálních sliznic, s tendencí k tvorbě abscesů a přechodu do chronicity
 - klinický projev - hnisavý výtok z ústí moč. trubice, uretritida
 - u mužů šíření kanikulární cestou do prostaty, nadvarlete a semenných váčků, varle nebývá postiženo
 - u žen je v uretrální složce vyznačena méně, typickým projevem je hnisavá kolpitida a cervicitida
 - zpravidla neproniká do moč. měchýře
- kapavčitá faryngitida, tonsilitida
 - z orálního sexu
 - v 90% asymptomatická, může být přítomna bolest v hrdle s mírným zarudnutím, příp. projevy tonzilitidy
 - dlouhá diagnostika, protože se běžně bakterie z faryngu nepodezírají za gonokoky

- komplikace:
 - u žen prostup do vejcovodů (salpingitida) – následkem je tvorba vazivových srůstů a neplodnost;
 - u mužů jizevnatá obliterace kanálků nadvarlete (=sterilita), striktury uretry
 - méně často může šířením per continuitatem dále dojít k peritonitidě s perihepatickým zánětem, sepsi, meningitidě, artritidě apod. = disseminovaná gonokoková infekce (DGI):
- vzácný nepohlavní přenos ve špatných hygienických podmínkách – infekce děvčátek, u nich postižena i vulva a vagina, na rozdíl od dospělých

faktory patogenity:

- mnohé stejné s meningokokem; některé variabilní dokonce i v rámci druhu *N. gonorrhoeae*; některé pouze u diseminovaných infekcí
- IgA-proteasa: společný pro meningokoka a gonokoka, i u jiných organismů
- piliny
 - opakující se proteinové subjednotky pilů (fimbrií)
 - zprostředkovávají vazbu povrchových pilů na epitelie uretry, cervixu.
 - vazbou pilů v urethře se gonokok udrží i při močení velkým tlakem, jiné bakterie se většinou neudrží.
 - dále díky pilům odolávání fagocytóze
 - schopnost genové konverze => zásah protilátek může být neúčinný.
 - obranu proti gonokokům zajišťuje protilátka proti antigenům pilů.
 - gonokoky jsou schopny měnit antigenní složení fimbrií, takže pacient je záhy osídlen novým sérotypem gonokoka.
 - změna antigenu je možné díky tomu, že genom gonokoka obsahuje plno genů pro antigeny fimbrií, tyto geny se střídají ve funkčnosti - jeden je funkční, zbytek ne, při množení gonokoků se děje postupné přeskupování genů, čím se původně funkční gen stává nefunkčním a naopak.
- sacharidová součást lipooligoacharidu (LOS) vnější membrány:
 - odpovídá lipopolysacharidu jiných G- bakterií.
 - LOS gonokoka je podobný LOSu meningokoka a hemofila.
 - brání v lýze neisserií zprostředkované komplementem; lipidická část LOSu je endotoxin
- opacity factor – Opa:
 - jeho produkce je variabilní, může i úplně chybět, obsahují ho i ústní neisserie
 - zodpovídá za endocytózu, která vede ke smrti hostitelské buňky
 - gonokoky zamezují svému zničení, i když jsou pohlceny fagocyty - nalézáme je intracelulárně, po smrti fagocytu se uvolní celý shluk gonokoků, ten působí jako infekční jednotka
- porin
 - povrchový protein vnější membrány
 - zprostředkovává průchod hydrofilních látek do bakteriální buňky
 - jeho konfigurace souvisí s citlivostí na ATB
 - výskyt i u ústních neisserií a meningokoků
- systémy vážící železo (viz meningokoky)
- hypervirulentní kmeny, které způsobují DGI (disseminované gonokokové infekce), obsahují další faktory virulence – např. ostrovy patogenity, které nejsou nalézány u jiných kmenů gonokoků, ani u dalších neisserií. Jedná se o sekreční systém napodobující konjugaci - transport efektorových molekul nejen skrz bun. stěnu bakterie, ale také na cílové místo buňky makroorganismu

patogeneze:

- infekční dávka: u žen $10^2 - 10^7$, u muže 10^3 jednotek tvořících kolonie
- choroba začíná adhezí bakterie na epitelie (fimbrie), nejsou odplaveny močí
- průnik do fagocytů, zničení fagocytu (ne gonokoka)
- gonokoky pak pronikají do subepiteliálních prostor
- bakterie, které pronikly do pojiva, přitahují velké množství polymorfonukleárních (fagocytujících) leukocytů, které tvoří hlavní součást hnisavého výtoku při akutní kapavce
- bakterie přežívá a množí se nejen v epiteliálních buňkách, ale i ve fagosomech leukocytů
- může se šířit do vnitřních pohlavních orgánů => zánět, často chronický
- neproniká do močového měchýře ani ledvin (nízké pH, vysoké koncentrace solí), váže se však na sliznici rekta a faryngu
- imunita jen krátkodobá – kvůli malé tvorbě protilátek a značné antigenní variabilitě gonokoka. Imunitu zajišťují IgA a IgG protilátky, buň. imunita NE

diagnostika:

- nutno odebrat vhodné vzorky: kombinuje se nátěr na sklíčko z ústí uretry nebo cervixu a výtěry na vatovém tamponu, zanořené do vhodné transportní půdy (např. Amiesova), nutno omezit teplotní šok (předem zahřát misku s půdou). Výtěry se odebírají z ústí uretry, příp. dále z cervixu, rekta, faryngu
- základ je kultivace: obohacené půdy, kolonie jsou drobné jako kapka rosy, drobnější kolonie bývají virulentnější a mají větší počet fimbrií. Také zde je nutno vyhnout se teplotnímu šoku, misku s agarem je nutno předem nahřát, zároveň půda nesmí vyschnout
- průkaz mikroskopicky: mikrobiální obraz poševní (MOP; obraz kapavky se označuje jako MOP IV) gonokoky jsou intracelulárně v leukocytech (odolávají rozštěpení po fagocytóze)
- biochemické testy - tvoří katalázu a oxidázu, štěpení cukrů (pouze glukóza)
- u závažných případů detekce DNA (hlavně PCR)
- průkaz antigenů se nepoužívá

testování citlivosti na ATB:

- na čokoládovém agaru
- u penicilinu diskový test citlivosti nespolehlivý, nutno vyšetřit produkci β -laktamasy nebo stanovit minimální inhibiční koncentraci (MIC)

epidemiologie:

- klasická pohlavní nemoc, člověk jediným hostitelem
- není typickou nemocí prostitutek (syfilis ano)
- nesexuální přenos nepravděpodobný (velká citlivost gonokoků)
- asymptomatické nosiči (ženy v 50%)
- častější než AIDS, sice dobře léčitelná, ale často není diagnostikována vzhledem k sociálnímu prostředí kde se vyskytuje, proto je i dnes problémem

léčba:

- dnes už ne příliš citlivé na penicilin – PPNG (penicilasu produkující *N. gonorrhoeae*), její příčinou je plasmidem kódovaný β -laktamasový enzym, který byl na gonokoky přenesen z enterobakterií v 70. letech prostřednictvím transpozonu Tn3, tyto kmeny jsou dnes velmi rozšířené
- chromosomální mutace (např. mutace genu *penA* → snížená afinita penicilin vázajícího proteinu k penicilinu) = kmeny CMRNG (chromosomally mediated resistance *N.gonorrhoeae*)
- spektinomycin, azitromycin, chinolony (hlavně ofloxacin a ciprofloxacin) – lze je podat v jednorázové dávce (výhoda: léčba nespolečnických pacientů – prostitutek, nevýhoda: v případě komplikací léčba nedostatečně účinná)
- doxycyklin p.o. z důvodu časté současné chlamydiové infekce, samy gonokoky bývají na doxycyklin často rezistentní (rezistence je kódována chromozomálně)

- u komplikací (saprofingitis, endometritis, prostatitis, epidymitis) cefotaxim, ceftriaxon, léčba nejméně deset dní (obdobně u gonokokové faryngitidy)
- nutná současná léčba sexuálních partnerů
- prevence: bezpečný sex
- prevence novorozenecké kekatokonjunktivitidy - používá se crédéizace (vkapávání antiseptického roztoku do očí každého novorozence bez rozdílu – septonex, jodové preparáty)
- prevence očkováním nemožná, ani prodělaná kapavka nezanechává trvalou imunitu

Neisseria meningitidis

morfologie:

- stejná jako u gonokoka – gramnegativní diplokok

kultivace a odolnost:

- kultivační nároky a citlivost menší než u gonokoka, ale větší než u ústních neisserií
- schopen se přenést v kapénkách vzduchem na krátké vzdálenosti
- uvítá čokoládový agar, ale nevyžaduje ho tak striktně a spokojí se i s krevním agarem s růstovými faktory a zvýšenou tenzí CO₂, na rozdíl od gonokoka
- špatně snáší nízké a vysoké teploty

biochemie:

- štěpí glukózu a maltosu (gonokok štěpí jen glukózu)

patogenita:

- velmi různorodá, různé druhy stavů:
 - bezpříznakové nosičství ve faryngu (asi 10% zdravé populace),
 - neinvazivní infekce – faryngitidy, neliší se od faryngitid způsobených jiným agens
 - invazivní infekce – sepse, meningitidy, vzácně pneumonie
 - závažná onemocnění u teenagerů a mladých dospělých
 - často fulminantní průběh
- fatální průběh: periferní cirkulační kolaps (=Waterhouseův-Friderichsenův syndrom) – pozdní diagnostika začátek léčby
- první příznaky často podobné chřipce, i když teplota brzy vysoká, meningeální příznaky, typická vyrážka
- plně rozvinutá seps - až 20% infaustní prognóza (doprovázena disseminovanou intravaskulární koagulopatií a celkovým rozvratem metabolismu)

patogenita z Povýšila – Meningokoková cerebrospinální meningitida

- závažné, převážně sporadické onemocnění mladistvých a mladých dospělých
- zdrojem infekce je člověk a přenos se uskutečňuje kapénkovou cestou. Zhruba 10 % mladých lidí jsou nosiči meningokoka
- vstupní branou infekce je nosohltan, odkud se infekce šíří hematogenní cestou.
- na začátku onemocnění převládají příznaky banální nazofaryngitidy.
- po průniku bakterií do krevního řečiště může onemocnění probíhat pod dvěma obrazy (často současně):
 - hnisavá meningitida
 - po přestupu meningokoků hematoencefalickou bariérou
 - většinou se vyvine zřetelná hnisavá leptomeningitida s lokalizací převážně na konvexitě. Komorový mok je zkalen leukocyty a fibrinem

- meningokoková seps
 - při rychlém množení meningokoků v krvi dochází k masivnímu uvolnění endotoxinu z rozpadlých bakterií
 - může vést během několika hodin ke smrti.
 - klinicky dominuje obraz šoku s purpurou na trupu a končetinách a s masivními oboustrannými hemoragiemi do nadledvin (Waterhouseův-Fridrichsenův syndrom).
 - příčinou tohoto těžkého stavu je syndrom intravaskulární diseminované koagulace (DIC).
- meningokokové infekce probíhají často velmi prudce, letalita dosahuje až 10%, přičemž polovina úmrtí je v prvních 24 hodinách od začátku potíží
- pacienti mohou utrpět další komplikace – známky poškození CNS (smyslové poruchy, poruchy psychomotorického vývoje, poruchy hlavových nervů, epilepsie)

patogeneze:

- infekce (zejm. invazivní) je důsledkem souhry mnoha faktorů na straně mikroba i makroorganismu
 - u meningokoka - faktory virulence: virulentní kmeny patří k několika klonálním uskupením, zatímco „nosičské“ kmeny ve zdravé populaci jsou neklonální, geneticky více proměnlivé
 - makroorganismus: stav imunity a aktuální fyzický stav jedince; infekci napomáhá dýchací sliznice narušená kouřením (i pasivním) – je lépe prostupná, obdobně i virová faryngitida a vysušení sliznice pro neprostupnost nosní dutiny apod.
- k invazi do krevního řečiště dochází ze sliznice laryngu nebo faryngu, do mozkomíšního moku vnik nejspíše hematogenně (pravděpodobně je možná i cesta přes nosní dutinu a lamina cribrosa)

antigeny:

- polysacharidové kapsulární antigeny
 - podle nich dělení do více než 10 sérologických skupin, např. A, B, C, W135, Y, Z.
 - skupiny B+C tvoří více než 90% kmenů v ČR
 - nemají moc vztah k virulenci, ale epidemiologický význam – protilátky proti nim jsou protekční => těchto antigenů lze využít k vakcinaci, ale to platí jen pro některé séroskupiny
 - u nás k dispozici divakcína proti skupinám A a C
 - proti B prevence není (jejich antigen heterogenní a málo imunogenní, také je prakticky totožný s K1 antigenem *E. coli* a někt. hemofilů)
- nekapsulární antigeny: proteiny vnější membrány → podle nich se rozlišují sérotypy a subtypy, také zřejmě není vztah k virulenci

faktory adhezivní: (důležité jsou první dva)

- podmiňují adhezi i proniknutí meningokoka do buňky
- fimbrie
- proteiny spjaté a opacitou (Opa a Opc)
- systém vážící transferin s železem: založen na spolupráci dvou transferin binding proteinů – TbpA a TbpB. TbpB slouží jako iniciální vazebné místo pro transferin saturovaný železem, přitom je transferin přiblížen k dimerní transmembránové makromolekule TbpA, která pak zajistí uvolnění železa z transferinu a jeho zachycení meningokokem
- LOS – stejné jako u gonokoků
- pouzdrní antigeny – obrana je možná jen za přítomnosti komplementu – u osob s poruchou jeho tvorby představují meningokoky zvýšené riziko. Pouzdro je složeno z komponent podobných hostitelským polysacharidům a proto je jen málo imunogenní a nesnadno podléhá opsonizaci
- superoxid dismutasa – jejími kofaktory jsou měď a zinek, mění toxické volné hydroxylové radikály na peroxid vodíku, ten je méně toxický (odbourán peroxidasou)

faktory virulence:

- k vyvolání bakteriémie je třeba součinnosti 75 genů, ale u většiny z nich není dosud známa přesná funkce = zatím tedy není jasné, čím se hypervirulentní kmeny liší od ostatních
- IgA-proteasa – obdobně jako u gonokoka
- poriny: dva, první společný všem neisseriím, druhý (PorA) specifický pro meningokoka

laboratorní diagnostika:

- u podezření na invazivní infekci – nejvalidnější vzorek je likvor a krev
 - už makroskopicky je likvor kalný a vytéká pod tlakem
 - mikroskopicky – leukocyty, intracelulárně i extracelulárně G- diplokoky
- tento typický nález není přítomen vždy – dále se tedy používá latexová aglutinace likvoru či séra
- k přímé detekci DNA meningokoka z likvoru/séra = PCR
- metoda MLST
- nevýhodou kultivace je relativní zdlouhavost – některé kmeny vyrostou až za 48hod
- biochemické testy: k odlišení jiných neisserií
- u výtěru z krku (faryngu) nalézáme meningokoky díky disku (nebo selekt. médiu) se směsí vankomycinu a kolistinu, které odcloní běžnou flóru
- testy ATB citlivosti – agar Müller-Hintonové

epidemiologie:

- jediný původce meningitidy schopen objevovat se epidemiologicky
- přenos kontaktem sliznic (pohlavní styk, líbání); na krátké vzdálenosti vzduchem v kapénkách, ve vzduchu ale nemohou přežít dlouho, proto přenos v situacích, kdy jsou si lidé blízko
- přenosu pomáhá stres a nárazová fyzická námaha
- u nás sporadické případy, ale jsou oblasti, kde jsou meningokokové invazivní infekce významnou příčinou úmrtí - „pás meningitidy“ v Africe na jih od Sahary, od Mali až po Etiopii – díky séro skupině A, prevalence až 1000 případů na 100 000 obyvatel

prevence:

- prevence a profylaxe: očkování, u nás strategie cílené vakcinace ohrožených částí populace divakcinou proti A a C (čištěný pouzdrý polysacharid)
- mimochodem, rozdíl mezi prevencí a profylaxí - příklad: prevence proti otěhotnění je ne-souložít, profylaxe je používat antikoncepci

léčba:

- u invazivních infekcí - obnova normálního fungování krevního řečiště a metabolismu a boj s DIC (infuze, plazma, heparin, streptokinasa, aktivace fibrinolýzy)
- ATB: penicilin (u nás jsou na něj meningokoky vysoce citlivé, ve světě méně, proto se užívá ampicilin, ko-trimoxazol, ceftriaxon, díky dobrému průniku do mozkomíšního moku chloramfenikol)

Ústní Neisserie

- dříve označovány jako „nepatogenní neisserie“
- vyskytují se jako součást běžné mikroflóry dutiny ústní a faryngu
- **morfologie** - nemusí být tak typická jako u jiných neisserií, nemusí se ani jednat o diplokoky (např. kokobacily)
- **kultivace** - relativně nenáročná, používá se krevní agar, kolonie jsou drobné s beta-hemolýzou a produkcí žlutého pigmentu, dobře rostou i při pokojové teplotě

- **biochemie** - z neisserií biochemicky nejaktivnější, pomocí rozdílů v biochemii se dají vzájemně rozlišit
- **význam** - důležitá složka běžné mikroflóry dutiny ústní (např. *Neisseria sicca*, *Neisseria subflava*, *Neisseria lactamica*). Jsou aerobní, a tedy spíše povrchové. Mimo ústní dutinu mohou být výjimečně patogenní (hlavně u osob s poruchou imunity) - meningitidy, endokarditidy
- **epidemiologie** - šíří se vzduchem, infekce jsou většinou endogenního původu
- **léčba** - obdobná jako u gonokoků a meningokoků, některé druhy tvoří beta-laktamasy

15 Rody *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas* a *Acinetobacter*

gramnegativní nefermentující bakterie

- neschopnost fermentace glukózy
- řada zástupců ovšem může štěpit glukózu aerobně respiračním mechanismem
- **morfologie:** nejčastěji podoba štíhlých obvykle rovných nebo mírně zahnutých tyčinek, mohou však nabývat i podobu kokobacilů nebo koků; některé rody mají bičíky, které jim umožňují pohyb
- **kultivace:** většinou nečiní obtíže, dobře rostou na běžných půdách – KA, Endova půda
- většinou netvoří na KA nijak výrazně charakteristické kolonie
- **biochemie:** bývá poměrně pestrá, využívá se v jejich identifikaci (NEFERMtest 24)
- **patogenita:** prakticky jen u oslabených osob, infekce však probíhají těžce, často končí fatálně
- **epidemiologie:** řada z nich původci nozokomiálních nákaz
- **diagnostika:** hlavně přímý průkaz – kultivace, biochemie

1. Rod *Moraxella*

- **morfologie:** gramnegativní koky a kokotýčinky ve dvojicích
- **biochemie:** pozitivní oxidasa a katalasa
- velmi malá biochemická aktivita (obtížné určování jednotlivých druhů)
- **terapie:** většina kmenů je dobře citlivá k velmi nízkým koncentracím penicilinu (čímž se liší od rodu *Acinetobacter*)
- **epidemiologie:** běžně se nachází na sliznici mnoha savců jako součást běžné mikroflóry (horní cesty dýchací, spojivky, genitální trakt)
- patogenní pouze příležitostně
- *Moraxella lacunata* - konjunktivitida, pro určení se používá výtěr spojivkového vaku
- *Moraxella catarrhalis* - záněty horních a dolních dýchacích cest (u dětí sinusitidy a otitidy, u dospělých pneumonie)
- *Moraxella osloensis* a *Moraxella phenylpyruvica* - bronchitidy, sinusitidy, konjunktivitidy, meningitidy, sepse
- *Moraxella nonliquefaciens* - endoftalmitidy

2. Rod *Alcaligenes*

- *Alcaligenes faecalis*
 - klinicky nejvýznamnější
 - jeho kolonie mají charakteristický pach připomínající borůvky nebo zahnívající jablka
 - v přírodě se nachází v půdě, ve vodě a na rozmanitých organických substrátech
 - významný původce nozokomiálních nákaz, s oblibou kontaminuje infuzní roztoky, respirátory, cévky, apod.
 - často způsobuje infekce urogenitálního traktu u mužů i žen
- *Alcaligenes piechaudii* - snáší až 6,5% NaCl v prostředí; byl prokázán jen v málo případech lidských infekcí
- *Alcaligenes xylosooxidans* - jsou známy jeho izolace z moči, hnisu, krve, likvoru, cévek a infuzních roztoků
- **Léčba:** účinné cefalosporiny III. a IV. generace a fluorochinolony; citlivost k antibiotikům je ovšem velice variabilní a je potřeba testovat kmen od kmene

3. Rod Burkholderia

□ Burkholderia cepacia

- *B. cepacia* původně cizopasil na česnekovitých rostlinách. Nyní se nalézá i v nemocničním prostředí, je obávaným původcem nosokomiálních nákaz.
- je značně rezistentní vůči některým dezinfekčním prostředkům, jako jsou například kvarterní amonné báze (Ajatin, Septonex) nebo chlorhexidin.
- je schopna rozmnožovat se i v destilované vodě se zdrojem dusíku, protože dovede vázat oxid uhličitý ze vzduchu.

- patogenita:

- *B. cepacia* vyvolává pestrou paletu infekcí včetně sepsí.
- vyskytuje se zvláště u dvou skupin osob: u jedinců s umělými náhradami srdečních chlopní nebo s cévními implantáty a u lidí s cystickou fibrózou plic, u kterých již pouhá kolonizace dýchacích cest tímto mikroblem výrazně zhoršuje průběh nemoci a zkracuje život. Podíl na tom má i produkce řady exolátů poškozujících makroorganismus (např. pyochelin schopný vyvazovat železo).
- infekce urogenitálního traktu žen - má oblibu množit se v gelech používaných při gynekologických vyšetřeních.
- kolonizace plic kmeny *B. cepacia* diskvalifikuje pacienty z možnosti transplantace plic
- kmeny *B. cepacia* dříve nebo později vyvolají smrtelnou formu pneumonie tzv. cepacia syndrom
- infekce téměř výhradně spojeny používáním kontaminovaných pomůcek/roztoků

- terapie:

- vykazuje atypickou citlivost k antibakteriálním látkám
- primárně rezistentní ke kolistinu, polymyxinu B a k aminoglykosidům
- snížená citlivost ke chloramfenikolu a kotrimoxazolu
- zatím účinné: piperacilin a jeho chráněná varianta (s tazobaktamem), ceftazidim, karbopenemy a fluorované chinolony

- laboratorní průkaz:

- *B. cepacia* roste na běžných půdách vč. půdy MacConkeyho a Endovy, na níž tvoří drobné červené kolonie s kovovým leskem.
- k izolaci ze sputa při cystické fibróze se používají selektivní půdy schopné potlačit růst *Pseudomonas aeruginosa*.

□ Burkholderia mallei

- *Burkholderia mallei* se u nás nevyskytuje, může k nám být zavlečena z tropických či subtropických oblastí, kde vyvolává vozhřivku (malleus) = onemocnění koní, oslů a ovcí, které se projevuje lymfadenitidou a sepsí. V případě přenosu na člověka probíhá nemoc fatálně!
- diagnostikou se zabývají spíše veterinární laboratoře. Vzhledem k obtížné primoizolaci a značné virulenci mikroba (riziko laboratorní nákazy) se upřednostňuje nepřímý průkaz prostřednictvím alergických kožních testů, prováděných na stejném principu jako například test tularinový.

□ Burkholderia pseudomallei

- způsobuje u lidí i zvířat nemoc zvanou melioidóza (pseudomalleus).
- vyskytuje se ve vodě a půdě, lze ho snadno kultivovat. Vyroslé kolonie jsou svraštělé a úporně tíhnou k substrátu, takže nabrat je kličkou bývá skutečně obtížné.

- většina infekcí probíhá bezpříznakově.
- dojde-li ke klinické manifestaci, má podobu akutně probíhajících sepse s vytvářením metastatických abscesů, subakutní pneumonie s lymfadenopatií připomínající mykobakteriálu nebo chronické lokalizované celulitidy.
- infekci nepodceňovat -mortalita neléčených septických případů je až 95 %!!!
- **terapie:** citlivost k antimikrobiálním látkám zhruba odpovídá citlivosti *B. cepacia*.

4. Rod *Stenotrophomonas*

- zástupce - *Stenotrophomonas maltophilia*

Morfologie a fyziologie

- pohyblivé tyčinky, striktně aerobní
- oxidasa negativní, zpomalená biochemická aktivita
- u zdravých jedinců se nepředpokládá patogenní působení, příležitostná kolonizace
- rizikem pro imunokompromitované pacienty a pacienty s cystickou fibrózou
- přirozeně rezistentní k mnoha antibiotikům a desinfekčním látkám
- občas způsobují u oslabených pacientů nosokomiální infekce (mortalita dosahuje až 43%)

Patogenita

- komunitní infekce: infekce kontaminovaných ran, uroinfekce
- nozokomiální infekce: infekce dýchacích cest (HAP, VAP), sepse, uroinfekce/uroseps, meningitidy, osteomyelitidy, endokarditidy, infekce ran, popálenin

Terapie:

- je rezistentní k většině užívaných protipseudomonádových antibiotik (aminoglykosidy, ceftazidim, piperacilin)
- účinné: karbapenemy, fluorochinolony a kotrimoxazol

5. Rod *Acinetobacter*

- striktně aerobní
- všechny jsou nepohyblivé a oxidasa negativní.
- u zdravých jedinců se nepovažuje za patogenní a výskyt v místě mikroflóry těla pacienta není známkou infekce
- riziko vzniká u imunokompromitovaných pacientů – infekce obdobné jako u *Stenotrophomonas*
- *Acinetobacter baumannii* - většina kmenů izolovaných ze vzorků materiálu od osob s popáleninami nebo poruchami imunity, případně z nemocničního prostředí. Je polyrezistentní k běžně užívaným ATB, je nutné testovat kmen od kmene
- *Acinetobacter calcoaceticus* - bývá běžně nacházen v přírodě ve vodě, půdě, na rostlinách
- *Acinetobacter ursingii* - je po *A. baumannii* nejčastěji izolovaným druh z hemokultur, endokarditidy
- *Acinetobacter schindleri* - izolován z kůže a sliznic ambulantních pacientů.
- **Terapie:** karbapenemy, aminoglykosidy (amikacin, isepamycin) a někdy i fluorochinolony. Na kmeny, které neprodukují ESBL lze použít i cefalosporiny III. a IV generace.
- tzv. „Iraqi bacterium“: označení pro MDR kmeny *A. baumannii*, výskyt od 2003 u raněných vojáků USA a UK v Iráku a Afganistánu (přenos kmenů do USA, UK a Evropy). Rezistence dána přítomností beta-laktamázy OXA-23.

16. Rod Staphylococcus - *Staphylococcus aureus*

Stafylokoky obecně:

- G⁺ koky, o průměru 1 μm
- uspořádány jednotlivě, v párech, tetrádách, a především tvoří sluky tvaru hrozu
- nepohyblivé, netvoří spory, pouzdro netvoří nebo jen omezeně
- fakultativně anaerobní, katalasapozitivní, oxidasanegativní (kromě *S. sciuri*)
- rostou v přítomnosti 10% NaCl; citlivé k lysostafinu, furazolidinu, resistantní k batracinu a lysozymu
- podle schopnosti koagulovat plazmu se dělí na:
 - koagulasapozitivní – *S. aureus*, dalších 6 druhů pouze u zvířat (z nich výjimečně u člověka *S. intermedius*)
 - koagulasanegativní (KNS) – *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*

Staphylococcus aureus

- přibližně u 1/3 lidí jako komenzál na kůži nebo na sliznicích, nevyvolává žádné potíže
- stačí menší porucha přirozené odolnosti, aby se projevil jako patogen
- jako patogen: kožní hnisavé (pyogenní) afekce až smrtelné sepse, otrava z potravin

Mikroskopie

- nelze odlišit od ostatních stafylokoků

Antigenní stavba

- peptidoglykan (murein) – účinek jako endotoxin (podněcuje uvolňování cytokinů z makrofágů, aktivace komplementu a shlukování krevních destiček)
- polysacharid A – hlavní antigenní determinanta všech kmenů *S. aureus*; je skupinově specifický, složený z ribitolových podjednotek kys. teichoové. Funkce - adheze na sliznice a rány (kys. teichoová se váže na fibronektin)
- protein A – hlavní bílkovinná součást bun. stěny, společný skupinový antigen všech kmenů. Nespecificky reaguje s Fc-fragmentem imunoglobulinů – čímž chrání stafylokoka před opsonizací protilátkami; dále působí proti komplementu a fagocytům
- kapsulární antigeny – lze je prokázat u některých (zejm. mukoidních) kmenů. Brání fagocytóze, existují v 11 antigenních typech (klinicky nejvýznamnější – typy 5, 8)

Genetika

- genom *S. aureus* obsahuje řadu profágů, transpozonů a inzerčních sekvencí
- pro *S. aureus* je typický přenos genů mezi kmeny pomocí transdukce (uplatňují se temperované bakteriofágy)
- týká se to např. genů rezistence na ATB umístěných na plasmidech

Kultivace

- běžné půdy, roste v širokém rozmezí teplot 7-46 °C, a pH 4,2-9,3
- krevní agar s 5% ovčích erytrocytů; a obyčejný/thioglykolátový bujon
 - za 24 hod: kolonie 1-3 mm, neprůhledné, hladký povrch, rovné okraje, krémová konsistence, pigmentované (smetanově, krémově, zlatožlutě, naoranžověle), okolo beta-hemolýza
 - v bujonu: zákal, později sediment
- selektivní půda – krevní agar s 10% NaCl (potlačuje G- flóru, odečítání do 48 hod)

Odolnost

- poměrně rezistentní
- odolávají vyschnutí, především v hnisu; snesou až 60°C; schopné množit se v přítomnosti NaCl
- odolné vůči fenolu a sloučeninám rtuti, alkohol je spíše konzervuje než hubí
- v selektivních půdách odolné vůči lithiu, glycinu, telluričitanu

Faktory virulence

POVRCHOVÉ:

- murein – zčásti podobný endotoxinu (indukce cytokinů, aktivace komplementu, shlukování trombocytů)
- polysacharid A – adhezenční
- protein A – vazba na Fc-fragment imunoglobulinů, účinek antikomplementární, antifagocytární
- kapsulární antigeny – antifagocytární, jen u mukoidních kmenů
- vázaná koagulasa (clumping factor) – váže fibrinogen a mění ho na fibrin, čímž vyvolává shlukování stafylokoků. (podle jedné teorie jsou stafylokoky povlečené fibrinem neviditelné pro fagocyty)
- další adhezenční proteiny – vazba na kolagen, elastin, fibronektin

EXTRACELULÁRNÍ:

- enzymy:
 - volná koagulasa - reaguje s plasmatickým faktorem za vzniku stafylothrombinu, kt. katalyzuje přeměnu fibrinogenu na fibrin => tvorba fibrinu je důvodem toho, že stafylokokové infekce probíhají formou ohraničených ložisek (abscesů)
 - katalasa – štěpí toxického peroxid vodíku
 - hyaluronidasa – štěpí kys. hyaluronovou v mezibuněčném tmelu, rozvolňuje ho a usnadňuje tak šíření stafylokoků ve tkáních
 - lipasy – štěpení obsahu mazových žláz; napomáhají k invazi maz. žláz a podkožní tkáň
 - nukleasy – napadají jádra leukocytů
 - stafylokinasa (fibrinolysin) – fibrinolýza (rozpouští fibrinové sraženiny)
 - penicilinasa (beta-laktamasa) – rozkládá beta-laktamový kruh v molekule antibiotik
- toxiny:
 - alfa-hemolysin – vyvolává úplnou beta-hemolýzu, působí dermonekroticky a letálně; poškození tkání; tvoří ho většina kmenů *S. aureus*
 - beta-hemolysin – sfingomyelinasa C (=poškození tkání, tvorba abscesů). Erytrocyty nerozpouští, jen štěpí sfingomyelin jejich membrány – tím se změní stabilita membrány, jejich celistvost ale zůstává zachována. K hemolýze dochází až sekundárně, např. účinkem chladu (hot-cold hemolysis), CAMP-faktoru (podklad CAMP testu) nebo delta-hemolysinu. Naopak, beta-hemolysin potlačuje hemolýzu vyvolanou alfa-hemolysinem (působí vůči němu antagonisticky)
 - gamma-hemolysin – inhibován agarem (=nemožný průkaz na KA). Pravděpodobně účast na vzniku osteomyelitidy
 - delta-hemolysin – tvoří ho téměř všechny kmeny *S. aureus*. Je inhibován lipoproteiny krevního séra, proto bývá kmen stafylokoků na KA mylně posouzen jako nehemolytický. Spoluprací s beta-hemolysinem vzniká na KA úplná beta-hemolýza.
 - leukocidin – tvoří póry v membráně neutrofilů a makrofágů (=jejich zánik)
 - enterotoxiny (A-E,G-R) – vysoce termostabilní, odolávají 1/2hod. varu a účinkům žal. šťáv. Vyvolávají zvracení a průjem, pseudomembranózní enterokolitidu
 - toxin syndromu toxického šoku I (TSS-1) – již v nepatrných koncentracích zvyšuje permeabilitu endotelií, zesiluje letální účinek endotoxinu; odpovídá za příznaky a multiorgánové selhání při syndromu toxického šoku
 - exfoliativní toxiny (epidermolytické toxiny) – proteolytické, v epidermis rozpouštějí mukopolysacharidovou matrix. Následkem je vznik obrovských bul a olupování velkých ploch pokožky (=stafylokokový syndrom opárené kůže, SSSS); zřejmě superantigen

Patogeneze

- onemocnění vyvolaná zlatými stafylokoky:
 - hnisavá onemocnění – nejčastěji
 - infekce spojené s působením toxinů
 - intoxikace z potravin
- predispozice
 - poranění, popáleniny, operační rány
 - cizí tělesa – implantované pomůcky, stehy
 - virové infekce – stafylokoková bronchopneumonie po chřipce
 - diabetes, malignity, imunodeficity
- benigní kožní infekce jsou časté, závažné stavy s postižením vnitřních orgánů a sepsí obvykle jen u disponovaných jedinců
- sklon k tvorbě abscesů
 - ohraničená zánětlivá ložiska, zánětem vzniklá dutina plná hnisu
 - hnis je tvořen rozpadajícími se leukocyty a bakteriemi; je smetanově žlutý a nepáchne
 - nekrotické centrum abscesu je obklopeno relativně bezcévnou stěnou z fibrinu a fibroblastů, okolní tkáň je zanícená (rubor, calor, tumor, dolor, functio laesa)
- vzácně se hnisavý proces šíří jako flegmóna (ta bývá způsobena spíše pyogenními streptokoky)

Patogenita

- cca 1/3 lidí bezpříznakový nosiči (nozdry, hráz, axily, vulva)
- **hnisavá (purulentní) onemocnění kůže a jejích adnex = pyodermie**
 - impetigo - povrchové puchýře v epidermis, vyplněné žlutým hnisem (=pustuly), s žlutohnědou krustou na povrchu; typicky u malých dětí
 - ecthyma - velké vředovité pustuly zasahující až do dermis
 - folliculitis - hnisavá infekce vlasového folikulu, která začíná v mazové žláze a projevuje se jako žlutavá pustulka se zarudlým okolím
 - furunculus (furunkl) - kožní absces vzniklý rozšířením zánětu folikulu do sousední škáry
 - carbunculus - rozsáhlé hnisavé ložisko, které vzniká splynutím několika furunklů, vznikají mnohočetné abscesy; zejména na šíji
 - sycosis barbae - chronická splývající folikulitida ve vousaté části obličeje
 - hordeolum (ječné zrno) - zánět Zeisovy mazové žlázy na okraji víčka
 - blepharitis - zánět víčka spojený většinou s hnisavým zánětem spojivky (conjunctivitis)
 - mastitis - zánět mléčné žlázy u kojících žen
 - hidradenitis suppurativa - hnisavý zánět potních žláz, zejm. v axile
- **hnisání ran**
 - nejčastější původce
 - běžná povrchová zranění, popáleniny, operační rány
 - většinou nevyvolává infekci v čisté ráně, ke vzniku infekce je potřeba, aby v ráně zůstalo cizí těleso (tříska, špína, stehy)
 - zhnisaná rána se hojí per secundam – po vyhnisání se vyplní granulační tkání, zůstává po ní nepravidelná jizva
 - z rány může pronikat do regionálních uzlin (lymphadenitis), a z nich do krevního oběhu (bakteriémie), to může vést až ke sepsi
- **infekce vnitřních orgánů**
 - abscesy vnitřních orgánů – po diseminaci krví do vnitřních orgánů
 - empyém – tělesná dutina vyplněna hnisem (např. empyém pohrudniční dutiny),
 - endokarditida – vznik vegetací na srdečních chlopních (infikovaný trombus). Komplikací je embolizace septických embolů a vznik metastatických abscesů v kůži, plicích, mozku, ledvinách
 - osteomyelitis – zánět kostní dřeně, může vzniknout jak hematogenně, tak po úrazu. U dětí postihuje metafýzy dlouhých kostí, u dospělých spíše obratle.
 - hnisavá arthritida – komplikace osteomyelitidy v blízkosti kloubů

- **respirační infekce**
 - sinusitidy – akutní záněty vedlejších nosních dutin, poměrně běžné
 - bronchopneumonie – nasedající na infekci virem chřipky – virová infekce zastavuje pohyb řasinek, což napomáhá vniku a množení stafylokoků v bronších.
- **infekce spojena s působením toxinů:**
 - syndrom toxického šoku (TSS) – způsobují kmeny množící se v ráně, nebo v pochvě ucpané vysoce nasákavým tamponem a produkující TSST-1. Jde o fatální febrilní stav, který vede k hypotenzi, dermatitidě, křečím, bezvědomí a multiorgánovému selhání
 - enterokolitida – při léčbě širokospektrými ATB, kdy se může přemnožit *S. aureus*, tvořící enterotoxin B
 - exfoliativní dermatitida (Ritterův syndrom, stafylokokový syndrom opařené kůže – SSSS)
 - způsobena kmeny tvořící toxin exfoliatin
 - nejčastěji u dětských stafylokokových infekcí nazofaryngu nebo kůže, postihuje celé tělo.
 - syndrom je charakterizován intraepidermálními puchýři v granulární vrstvě, tekutina v puchýřích je sterilní
 - vede k částečné nebo úplné ztrátě kůže (olupování rohové vrstvy ve velkých plochách)
- **intoxikace:**
 - stafylokoková enterotoxikóza
 - intoxikace, nikoli infekce
 - velmi častá otrava z potravin (sekaná, bramborový salát, krémové zákusky, zmrzlina), které jsou kontaminovány zlatým stafylokokem, produkujícím termostabilní enterotoxiny
 - enterotoxiny vedou stimulací viscerální peristaltiky k průjmům a iritací emetického centra ke zvracení (často obojí současně)
 - rozvoj příznaků náhle, 1-6 hod po požití jídla s toxinem (stafylokoky již ani nemusí být v jídle přítomné)
 - samovolné uzdravení, v kl. obraze bez výraznějších morfologických změn

Léčba

- u lokalizovaných infekcí – chirurgická léčba – otevření abscesu, vypuštění hnisu, odstranit případné cizí těleso a postarat se o drenáž (aby mohl hnis i nadále odtékat)
- ATB: přes 90% kmenů je dnes na penicilin rezistentních, protože získaly plasmid kódující schopnost tvořit penicilinasu
- většina komunitních kmenů je ještě stále citlivá na polosyntetické peniciliny, do jejichž molekuly byla vnesena vhodná skupina, která brání přístupu beta-laktamasy k citlivému místu na beta-laktamovém kruhu
 - lék volby = oxacilin, cloxacilin (v kombinaci s ampicilem)
 - dále aminopeniciliny/inhibitory betalaktamázy; cefalosporiny I,II. gen.
 - v zahraničí oxacilinu příbuzný methicilin
- alternativně makrolidy, linkosamidy, kotrimoxazol, aminoglykosidy, chinolony - většina našich kmenů na ně zůstává citlivých
- mupirocin – lokální ATB, k léčbě ohraničených kožních infekcí a odstranění nosního nosičství
- MRSA – glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin), dále linezolid, tigecyclin

Rezistence

- MRSA (=methicilin-rezistentní *S. aureus*)
 - gen *mecA*, kóduje pozměněný druh penicilinvázajícího protein PBP2a – neváže se na penicilin, ale zachována enzymatická funkce výstavby membrán)
 - PBP jsou transpeptidázy účastníci se na výstavbě buněčné stěny a peniciliny inhibují jejich účinek, takže v důsledku narušené bun. stěny se mikroby rozpadají
 - modifikovaný PBP2a si zachovává svou enzymatickou schopnost, ale na peniciliny se neváže
 - MRSA jsou rezistentní vůči všem beta-laktamům, včetně jejich kombinací s inhibitory beta-laktamas, tedy i k cefalosporinům, karbapenemům a monobaktamům
 - MRSA se staly obvykle rezistentní i na řadu dalších ATB: makrolidy, aminoglykosidy, tetracykliny, chloramfenikol, fluorochinolony a rifampicin
- VISA (vankomycin-částečně/intermediárně-rezistentní *S. aureus*; resp. GISA)
 - podstata není celkem známa, ví se, že GISA vytvářejí abnormálně silnou vrstvu peptidoglykanu
- VRSA (= vankomycin-rezistentní *S. aureus*; resp. GRSA)
 - MRSA současně vysoce rezistentní k vankomycinu, od r. 2002
 - přítomnost genu *vanA*, získaného pravděpodobně od enterokoků
 - mohl by vzniknout natolik polyrezistentní kmen, že infekce jím vyvolané nebudeme mít čím léčit

Prevence a epidemiologie

- absence očkovací látky, neznámé protekční antigeny
- stafylokokový anatoxin – obsahuje formolizované toxiny alfa, beta a delta; má omezený terapeutický účinek u chronických stafylo procesů, usídlení stafylokoků ale neovlivní

Profylaxe

- prevence stafylokokových nákaz - řádné ošetření ran, jejich vyčistění a dezinfekce antiseptiky,
- prevence hnisání operačních ran – asepse, šetrná operační technika, profylaxe ATB
- epidemiologický režim na odděleních - mytí rukou před ošetřením každého pacienta

Laboratorní průkaz

- přímý průkaz - základní
 - materiál – hnis (jako tekutina, nikoli stěr z ložiska); krev na hemokultivaci, exsudáty, aspiráty, sputum, moč atd.
 - není třeba zvláštních opatření při odběru/transportu – jedná se o odolné bakterie
- mikroskopický nález: G+ koky ve shlucích a četné leukocyty
- kultivace:
 - běžné půdy; nejlépe krevní agar a obyčejný nebo thioglykolátový bujon
 - selektivní půda (záchyt z kontaminovaných vzorků) – krevní agar s 10% NaCl
- průkaz vázané koagulasy (clumping factor)
 - z kolonie se připraví na sklíčku hustá suspenze v kapce destilované vody, přidá se kapka králičí nebo prasečí plazmy
 - pozitivní výsledek - dojde-li do 10 sekund k aglutinaci
- průkaz volné koagulasy (zkumavkový test)
 - v případě negativity testu na vázanou koagulasu
 - v citrátované králičí plasmě se rozmíchá jedna kolonie
 - po 4hod inkubaci při 37 °C se zkumavka pomalu nakloní a pátrá se po chuchvalci sražené plazmy (většinou je však všechna tekutina ve zkumavce sražená úplně)
 - v negativním případě se kultivace prodlouží přes noc
 - odečet za 4hod je nutný, některé kmeny produkují tolik fibrinolýzinu, že vzniklá sraženina se přes noc opět rozpustí

- latexová aglutinace
 - průkaz proteinu A, kapsulárních polysacharidů
 - citlivější a specifitější než běžný sklíčkový test na vázanou koagulasu
- sérologie – vzácně, průkaz antistafylolysinů, např. u endokarditid

17. Rod *Staphylococcus* - koagulasanegativní stafylokoky (KNS)

Zástupci:

- *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* ssp. *hominis*, *S. hominis* ssp. *novnobiiosepticus*

Morfologie

- G+ koky, nelze je navzájem odlišit, ani od ostatních stafylokoků
- v nátěru z kultury *S. epidermidis* bývají všechny koky stejnoměrně modře přebarveny

Kultivace

- běžné půdy
- tvoří velké kolonie (*S. haemolyticus*), nebo drobné kolonie (*S. hominis*),
- kolonie vždy pigmentované (bílé, bělošedé)
 - *S. epidermidis* – porcelánově bílé kolonie
 - *S. haemolyticus* – obvykle jasně bílý, může být i špinavě žlutý
 - *S. pasteurii*, *S. xylosus* – žlutá pigmentace
- hemolyzin
 - *S. haemolyticus*, *S. hominis* - je blízký hemolyzinu delta u *S. aureus*
 - *S. intermedius*, *S. schleiferi* – stafylokokový beta-hemolyzin, který se pozná podle chladového efektu po uložení v ledničce

Biochemie

- druhová identifikace založena na biochemických znacích – štěpení močoviny, mannitolu, trehalosu, sacharosy, xylosy, ornithinu; tvorba acetoinu, glukosidasy a pyrrolidonylarylamidasy
- dále na průkazu citlivosti k novobiocinu
- kombinace těchto testů je základem komerčních souprav k identifikaci stafylokoků

Antigeny a faktory virulence

- potenciální faktory virulence:
 - peptidoglykan – vyvolává uvolnění TNF- α , IL-1 β a IL-6 z monocytů
 - receptor pro transferin
- adheziny
 - kapsulární polysacharid-adhezin (PS/A)
 - kys. teichoová – adheruje na aktivované trombocyty
 - stafylokokové povrchové proteiny SSP-1 a SSP-2,
 - fibrinogen-vázající protein (Fbe)
 - autolysin E (AtlE)
- ve tvorbě biofilmu se angažují:
 - polysacharidový intercelulární antigen (PIA)
 - s akumulací spjatý protein (AAP)
 - se slizem asociovaný antigen (SSA)
 - extracelulární slizová substance (ESS)

Patogeneze

- oportunní patogeny, u normálního hostitele vyvolávají infekci jen vzácně
- predispozice mají hlavně:
 - intravenózní narkomani (typicky závislí na heroinu)
 - imunokompromitovaní jedinci – nezralí novorozenci s nevyvinutým opsofagocytárním systémem, neutropenici
 - nemocní se zavedenými nebo implantovanými pomůckami – i.v. katétry (flexily, porty),

umělé srdeční chlopně, kardiostimulátory, shunt, močové katetry, kloubní protézy, šrouby, fixační pomůcky, ...)

- snadno adherují na cizí povrchy a rostou na nich v podobě biofilmu
 - na adhezi se podílí jednak zmíněné adheziny a jednak plazmatické a tkáňové bílkoviny (fibronektin, fibrinogen), které povlékají cizorodé těleso a slouží pro bakterie jako receptor
 - po adhezi začnou stafylokoky tvořit mikrokolonie
 - začnou produkovat slizovou extracelulární matrix (k aktivaci genů potřebných pro jejich tvorbu stačí pouhé přilnutí k povrchu, nepotřebují chemické signály typu quorum-sensing)
 - postupně vzniká typicky strukturovaný biofilm, obsahující stafylokoky obalené slizem
 - stafylokokový sliz účinkuje na polymorfonukleáry - přitáhne je, vyvolá jejich degranulaci a potlačí jejich schopnost pohlcovat a zabíjet stafylokoky (jakoby se po kontaktu se slizem polymorfonukleár „vybil“ a nebyl dále schopen fagocytovat a ničit pohlcené bakterie)
 - v podobě biofilmu odolávají nejen fagocytóze, ale i ATB léčbě

Patogenita

- nejčastěji infekce spojené se zavedenými nebo implantovanými pomůckami
- infekce krevního řečiště, projevující se bakteriemií
 - nejčastější příčinou přítomnosti KNS v krvi jsou infikované intravenózní katetry
 - každá kolonizace katétru KNS se nemusí projevit příznaky, ale může dojít až ke katetrové sepsi s příznaky šoku a mortalitou 33%
- endokarditida
 - stafylokoková infekce nativních chlopní je poměrně vzácná
 - častěji u narkomanů (intravenózní heroin poškozuje trojcípou chlopně) nebo u umělých srdečních chlopní
- infekce likvorových spojek – projeví se jako meningitida, nebo zhoršená funkce shuntů
- infekce cévních štěpů – bývá po měsíce až léta indolentní
- infekce kloubních protéz, osteomyelitidy (spojené se zavedenými šrouby)
- peritonitidy – v souvislosti s peritoneálními dialyzačními katetry
- dále infekce kardiostimulátorů, silikonových prsních implantátů, penilních protéz
- bakteriémie u novorozenců a neutropeniků, infekce operačních ran, občas průkaz v mozkových abscesech, sternální osteomyelitida po kardiochirurgických operacích,
- infekce močového traktu – *S. saprophyticus* u mladých sexuálně aktivních žen; ostatní KNS spíše u starších osob s močovým katétrem
- obecně jsou infekce KNS převážně nozokomiální

Léčba

- poměrně rezistentní na běžné protistafylokokové ATB jako oxacilin (dána genem mecA), erythromycin, klindamycin, tetracykliny, gentamicin + zvyšuje se rezistence i na co-trimoxazol a fluorochinolony
- zatím citlivé na vankomycin, rifampicin

Profylaxe

- při operacích se k profylaxi používá např. cefazolin
- zásadní je dodržování asepse

Laboratorní průkaz

- kultivační průkaz KNS – bez problémů
- izoláty z krve a fyziologicky sterilních míst - je nutné podrobné určení = komerční soupravy k průkazu koagulasy a k biochemické identifikaci kmenů

druh	klinický význam
S. epidermidis (35%)	septikémie, endokarditidy, katérové sepse, infekce operačních ran, močového traktu, oka, kloubních protéz, CNS, peritonea při dialýze
S. haemolyticus (23%)	endokarditidy, septikémie, peritonitidy, cystitidy, infekce ran, kostí, kloubů
S. hominis ssp. hominis (12%)	septikémie, cystitidy
S. hominis ssp. novobiosepticus	septikémie, katérové sepse, infekce ran, meningitidy
S. warneri	septikémie, endokarditidy, osteomyelitidy
S. sciuri	cystitidy, urethritidy
S. lugdunensis	endokarditidy, katérové sepse, cystitidy, artritidy, endoftalmitidy
S. capitis ssp. ureolyticus	endokarditidy, septikémie, katérové sepse
S. saprophyticus	cystitidy, urethritidy, infekce ran, septikémie

18. Rod Streptococcus - *Streptococcus pyogenes*

Rod *Streptococcus* obecně:

- fakultativně anaerobní G+ koky, které se řadí do dvojic až řetízků
- nepohyblivé, katalasanegativní
- kolonie drobné i na obohacených půdách
- až na výjimky nerostou:
 - při 10°C ani při 45°C
 - v přítomnosti 6,5% NaCl nebo 40% žluč. solí
 - při pH vyšším než 9
 - nehydrolizují eskulin, nejsou pohyblivé
- citlivé na vankomycin, mnohé hemolyzují na krevním agaru
- patří mezi ně druhy obligátně patogenní i příslušníci normální mikroflóry sliznic u člověka a zvířat
- rozdělení podle hemolýzy:
 - **beta-hemolýza**: projeví se odbarvením erytrocytů
 - **úplná** – dojde zároveň k projasnění půdy v okolí hemolytické kolonie. *S.pyogenes*, beta-hemolytické streptokoky skupin C,G,F
 - **neúplná** – půda v zóně hemolýzy zůstává zakalená, *S. agalactiae*
 - **alfa-hemolýza**: viridace (z lat. viridis – zelený) – změna krevního barviva na zelený verdoglobín. Vzniká působením peroxidu vodíku, velice záleží i na složení média a atmosféry. *S. pneumoniae*, tzv. skupina viridujících streptokoků
 - **gama-hemolýza**: nehemolytické kmeny
- klasifikace podle přítomnosti polysacharidu C
 - je-li přítomen, umožňuje rozlišit antigenní skupiny A-Z
 - sk. A – *S. pyogenes*
 - sk. B – *S. agalactiae*
 - sk. C – *S. dysgalactiae* ssp. *equisimilis*
 - sk. D – *S. bovis*
 - sk. G – *S. dysgalactiae* ssp. *equisimilis*
 - není přítomen u pneumokoků a u mnoha viridujících streptokoků
- jiné rozdělení:
 - beta-hemolytické (**pyogenní**)
 - non-beta-hemolytické (**non-hemolytické**) - sem se řadí i alfa-hemolytický pneumokok a streptokoky viridující neboli ústní

Streptococcus pyogenes

- působí především hnisavé infekce faryngu a kůže, je však schopen vyvolat i vážná celková onemocnění; u disponovaných jedinců se po streptokokové infekci někdy objeví tzv. pozdní následky

Morfologie

- pravidelně kulaté až lehce ovoidní, průměr okolo 0,8 µm (o poznání drobnější než stafylokoky)
- tvoří dvojice až řetízky (dlouhé řetízky v tekutých kultivačních půdách)
- některé kmeny mají pouzdro z kys. hyaluronové

Fyziologie

- fakultativně anaerobní, katalasa- i oxidasa- negativní
- hlavní produkt metabolismu je kys. mléčná
- zahubí ho teplota 60°C po 30 min (na rozdíl od enterokoků), ale odolává vyschnutí i nízkým koncentracím krystalové violeti a solí thalia.

Kultivace

- poměrně náročný, vyžaduje půdy obohacené sérem nebo krví, na obyčejném živném agaru a v živném bujónu roste špatně
- v tekutých půdách tvoří sediment, půda nad ním může být zcela čirá
- na krevním agaru drobné kolonie, lesklé, 0,5 mm v průměru, bývají ohraničeny zónou úplné beta-hemolýzy
- opouzdřené kmeny rostou v o něco větších koloniích, mukoidních
- hemolýza je výraznější při nižších pH a nižší tenzi kyslíku; potlačuje ji přítomnost redukujících cukrů v médiu

Antigenní stavba

- polysacharid C - skupinové specifický, na jehož podkladě se *S. pyogenes* řadí do sk. A
- M-protein
 - bílkovinný povrchový antigen - vláknitá struktura vyčnívající z bakteriální stěny
 - obsahuje místa, kam se váže regulační faktor komplementu H a fibrinogen.
 - složení volného aminoterminálního konce je velmi variabilní
 - na podkladě jeho antigenní stavby se rozeznává více než 100 sérotypů, vůči nimž existuje typově specifická imunita daná přítomností opsonizačních protilátek = je to hlavní protekční antigen
 - infekce nosohltanu (M1,3,4,12); kůže (M2,49), revm. horečka (M1,3,5,16), akutní glomerulonefritida (M2,49,55,57)
- protein blízký M-proteinu
 - sérový opacitní faktor, lipoproteinasa působící opacitu (kalení) séra
 - protilátky proti opacitnímu faktoru jsou typově specifické a korelují s M-typem
- protein T
 - rozeznávání dalších 25 typů, které mají určitý vztah k M proteinu

Faktory virulence

POVRCHOVÉ SLOŽKY:

- M-protein
 - působí antifagocytárně a adhezenčně; další funkce - internalizace, invaze
 - odolávání fagocytóze a nitrobuňčenskému usmrcení
 - odolnost k fagocytóze: vazba reg. faktoru H na M-protein, což zamezí ukládání C3b na povrch streptokoka a tak potlačí aktivaci alternativní dráhy komplementu; stejný důsledek má vazba fibrinogenu na M-protein
 - adheze na epitelie sliznic a kůže: umožní streptokokům přilnout na povrch epitelie
 - internalizace: streptokoky se dostávají do nitra buňky
 - invaze: M-protein pomáhá pronikat tkáněmi
- proteiny blízké proteinu-M
 - antifagocytární, antiopsonizační
 - váží fibrinogen; váží Fc oblast IgA a IgG, čímž brání opsonizační funkci protilátek
- pouzdro z kys. hyaluronové
 - antifagocytární, antiopsonizační, adhezenční
 - je téměř neimunogenní (kys. hyaluronová je normální součástí pojivové tkáně)
 - brání opsonizaci a přístupu fagocytů k opsoninům na povrchu streptokoka
 - adheruje na CD44 na epitelích

EXTRACELULÁRNÍ ENZYMY:

- Streptolysin O - toxický pro leukocyty a monocyty; protilátky proti němu (antistreptolysin O – ASLO) slouží k retrospektivní diagnóze nedávno proběhlé infekce a k diagnóze případných pozdních následků
- Streptolysin S – není antigenní, toxický pro fagocyty
- streptokinasa, enolasa – invazivní; váží tkáňový plasminogen, na povrchu bakterie vzniká plasmin, který aktivuje metaloproteinasy a kolagenasy, což umožňuje invazi
- hyaluronidasa – invazivní; usnadňuje průnik tkání tím, že rozpouští mezibuň. tmely a pojivo
- deoxyribonukleasa B – diagnostický význam, jako antigen k průkazu protilátek
- C5a-peptidasa - štěpí komplementový fragment C5a a inhibuje tak chemotaxi leukocytů

TOXINY

- streptokokové pyrogenní exotoxiny (Spe)
 - geny pro typy A a C jsou kódovány bakteriofágem
 - dříve se exotoxiny SpeA a SpeC souhrnně nazývaly spálový, neboli erytrogenní Dickův toxin
 - gen pro typ B je chromosomální, jeho produktem je cysteinová proteasa sloužící jako průnikový faktor
 - Spe účinkují jako superantigeny – spojí molekulu MHCII na antigen-prezentujících buňkách s receptorem T-buněk – tím se nespecificky aktivuje spousta T-buněk a uvolní přemíra cytokinů. Následuje horečka, aktivace komplementu, systémů srážlivosti a fibrinolýzy. Výsledkem je syndrom streptokokového toxického šoku.

Imunita

- především protilátky proti M-proteinu
 - IgA brání adhezenci na epitely a kolonizaci sliznic
 - IgG opsonizují a zamezují tak invazi do tkání a množení streptokoků v krvi
- existují protilátky i proti dalším povrchovým antigenům a proti C5a-peptidase
- protilátky proti pyrogenním exotoxinům A,B,C chrání jen proti vzniku spálové vyrážky, nikoli proti vzniku anginy
- imunita je přísně typově specifická, proto lze streptokokovou anginou onemocnět opakovaně, a to po infekci stejným typem, pokud byla ATB terapie zahájena včas a protilátky proti M-proteinu se nestačily vytvořit

Patogenita

- **lokalizované pyogenní (hnisavé) infekce:**
 - akutní tonsilofaryngitida (angina)
 - *S. pyogenes* je nejčastější původce, šíří se kapénkovou cestou
 - postihuje hlavně děti školního věku, obvykle na podzim a v zimě
 - podle vzhledu se rozeznává tonsillitis acuta catarrhalis, follicularis, lacunaris, pseudomembranosa
 - součástí je i horečka a zduření podčelistních uzlin
 - stejnoměrně šarlatově zbarvená a zduřelá sliznice tonsil až celého faryngu, nepřítomnost rýmy a kašle
 - spála (scarlatina)
 - kmeny produkující pyrogenní exotoxiny
 - k příznakům anginy se přidává typická vyrážka a malinový jazyk (epitel jazyka je deskvamovaný s prominujícími papilami), sliznice dutiny ústní a nazofaryngu je sytě červená
 - komplikace anginy a spály mohou být hnisavé (peritonsilární nebo retrofaryngeální absces, otitis media), vzácně toxické (syndrom streptokokového toxického šoku), případně vzniknou pozdní následky

- **kožní hnisavé infekce (pyodermie)**
 - obvykle vyvolány jinými M-sérotypy; vyskytují se většinou v létě
 - jsou vysoce nakažlivé, z pozdních následků po nich vzniká glomerulonefritida
 - impetigo – povrchová infekce epidermis, u malých dětí. Nebolestivé puchýře vyplněné žlutým hnisem, zasychající strupy
 - erysipel (růže) – pokud streptokoky proniknou hlouběji; ostře ohraničený zánět škáry – na kůži jsou bolestivá ohraničená ložiska. Obvykle se vyskytuje v bérkách nebo na obličeji
 - cellulitis – zánět podkoží, má sklony se šířit
 - hnisání rán – má tendenci se šířit, např. do regionálních uzlin (v podobě rudých pruhů pod pokožkou – lymfangitis; následně hnisavý zánět uzlin – lymphadenitis suppurativa)
- **invazivní a toxická onemocnění**
 - nekrotizující fasciitis
 - flegmóna
 - myozitida, myonekróza
 - pneumonie, meningitida
 - sepsy
 - poporodní sepsy
 - v minulosti
 - pyogenní streptokoky zavedené rukama porodníka do porodního kanálu se ranou po odloučení placentě dostaly do krve a množili se v ní
 - syndrom podobný toxickému šoku (syndrom streptokokového tox. šoku)
 - zánět měkkých tkání, nápadná bolestivost v místě infekce
 - horečka, nauzea, průjemy, příznaky šoku
- **pozdní následky streptokokových nákaz**
 - revmatická horečka
 - horečnatý nehnisavý zánět srdce (poškození endokardu, myokardu, a hlavně mitrální chlopně), kloubů (stěhovavá artritida), vzácněji CNS (chorea minor) a kůže (erythema marginatum)
 - dostavuje se několik týdnů po streptokokové angíně
 - provázena celkovými známkami zánětu – zvýšená sedimentace, zvýšená hladina CRP, zvýšená a neklesající hladina protilátek proti streptokokovým antigenům (ASLO)
 - předpokládá se, že streptokoky vyvolají tvorbu protilátek proti antigenům pouzdra, buněčné stěny a cytoplasmatické membrány; tyto zkříženě reagují s lidskými antigeny (myosin, laminin, keratin)
 - vyskytuje se častěji po infekci „revmatogenními“ sérotypy – M1,3,5,16,18
 - akutní glomerulonefritida
 - dostavuje se po infekci „nefritogenními“ typy – M2,49,55,57
 - změny jsou vyvolány usazováním imunitních komplexů v glomerulech

Léčba

- cílem je zabránit vzniku pozdních následků
- penicilin - lék volby
- v případě alergie - cefalosporiny, makrolidy (narůstající rezistence!), linkosamidy (při faryngeálního nosičství)
- selhání penicilinu u přežívání streptokoků uvnitř epitelů resp. traktu, do nichž penicilin neproniká
- rezistence většiny kmenů vůči tetracyklinům; sulfonamidy a kotrimoxazol zase nejsou schopny spolehlivě zamezit vzniku pozdních následků
- rezervní: glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin), linezolid, tigecyclin

Epidemiologie

- výskyt na celém světě
- zdrojem nemocný člověk, rekonvalescent nebo bacilonosič
- *S. pyogenes* jako jediný z rodu schopen šíření vzdušnou cestou => streptokokové epidemie
- nepřímý přenos (kontaminovanými předměty) především u infekcí kůže a ran
- šíření umožňuje mezilidský styk (kolektivy)

Laboratorní průkaz

- kultivace na krevním agaru
 - materiál:
 - výtěr z mandlí (zadní stěny hltanu)
 - u pyodermií obsah puchýřků nebo exsudát ze spodiny lézí
 - při růži aspirace tkáňového moku z okraje ložiska po vstříknutí 0,1 ml sterilního fyziologického roztoku
 - u otitidy výtěr z ucha (při prasknutí, paracentéze)
 - při sinusitidě nosní výtěr, punkce dutin
 - u meningitidy likvor
 - u infekcí DCD sputum
 - u sepse nesrážlivá krev
 - roztěr doplnit několika šikmými vpichy pro záchyt hemolýzy vyvolané oxygenlabilními hemolysinami
 - inkubace 37°C, po 18hod odečíst, odečet opakovat za 48hod
 - k záchytu dalších možných původců anginy je třeba doplnit roztěr stafylokokovou čarou a kultivovat za zvýšené tenze CO₂
- latexová aglutinace – zařazení katalasa-negativních beta-hemolytických kolonií do sk. A
- bacitracinový test – obsolentní
 - provádí se difuzní agarovou metodou
 - po 24h inkubace se hodnotí zóny inhibice typické pro druh *S.pyogenes*, který je k bacitracinu citlivý
 - test je však málo spolehlivý a je nutno ho doplnit sérologickým určením skup. antigenu
- pozitivní PYR-test na pyrrolidonylaminopeptidasu (pozitivita také u enterokoků)
- krev na průkaz ASLO
 - při podezření na hrozící pozdní následky
 - normální hladina u dospělých je nižší než 200 m.j.
 - po angině stoupá, u revmatické horečky zůstává zvýšená
 - protilátky se objevují koncem 1. týdne, vrchol 3.-5. týden, další dva týdny vzestup u revm. horečky, potom pomalu pokles, nikdy až na počáteční hladinu
- krev na průkaz antideoxyribonukleasy B (ADNB)
 - důležité u podezření na pozdní následky
 - normální hladina do 300 m.j.
 - hladina klesá podstatně pomaleji než ASLO
- identifikace:
 - rodová – mikroskopie (G+ koky, tvoří řetízky), fakult. anaerobní, nepohyblivé, K-, hemolýza na KA
 - skupinová – dle přítomnosti skupinově specifického polysacharidu C
 - druhová – podle biochemie (STREPTOTEST 16)

beta-hemolytické streptokoky:	(beta)
<i>S. pyogenes</i>	tonsilitidy, spála, další hnisavé infekce a jejich pozdní následky, sepse, streptokokový syndrom toxického šoku
<i>S. agalactiae</i>	cystitidy, novorozenecká sepse a meningitidy
<i>S. dysgalactiae ssp. equisimilis</i>	tonsilitidy aj. hnisavé infekce
<i>S. equi ssp. zooepidemicus</i>	tonsilitidy aj. hnisavé infekce
<i>skupina S. angiosus („milleri“)</i>	abscesy, peritonitidy, močové infekce
Non-beta-hemolytické streptokok	(alfa):
<i>S. bovis</i>	endokarditidy, bakteriémie při karcinomu tlustého střeva
<i>S. pneumoniae</i>	pneumonie, otitidy, meningitidy
<i>S. sanguinis</i>	endokarditidy (loudavá sepse)
<i>S. mutans</i>	zubní kaz, endokarditidy
<i>S. salivarius</i>	endokarditidy
<i>S. mitis</i>	meningitidy, sepse, endokarditidy
<i>S. suis</i>	sepse u neutropeniků

-

19. Rod Streptococcus – beta-hemolytická skupina

Streptococcus agalactiae

- beta-hemolytické streptokoky sk. B

Morfologie

- mikroskopicky nelze odlišit od ostatních beta-hemolytických streptokoků
- dlouhé řetízky v tekutých médiích vypadají, jako by byly složeny ze dvojic koků

Kultivace a fyziologie

- krevní agar: kolonie mnohem větší než u *S.pyogenes*, mazlavé, obklopené úzkou zónou neostře ohraničené neúplné (kalné) beta-hemolýzy
- v sousedství *S.aureus* je tato hemolýza nápadně zesílena
 - odpovídá to pozitivnímu CAMP-testu
 - tzv. CAMP-faktor *S. agalactiae* se váže na membránu erytrocytů narušenou stafylokokovou sfingomyelinasou C, což vede k rozpadu erytrocytů
- za přítomnosti škrobu a za anaerobních podmínek tvoří oranžový pigment (selektivně diagnostické půdy)
- rostou v přítomnosti žluče
- hydrolyzují hippurát sodný
- PYR-test a eskulin je negativní
- většina rezistentní na bacitracin

Antigenní stavba

- skupinově specifický antigen B
- typově specifické polysacharidové antigeny: pro člověka nejdůležitější sérotyp III (novorozenecké sepsy a meningitidy), sérotyp V

Patogeneze

- pouzdro
 - zatím jediný známý faktor virulence
 - u sérotypu III. obsahuje kys. sialovou – ta brzdí aktivaci komplementu alternativní dráhou a fagocytózu

Patogenita

- novorozenecké meningitidy a sepsy
 - streptokoky sk. B jsou jejich nejdůležitějšími původci
 - časná infekce
 - vzniká během porodu *in utero* (při předčasném odtoku plod. vody nebo při průchodu plodu porodním kanálem)
 - projeví se během prvních hodin a dní po narození
 - bakteriemie, pneumonie, meningitida, septický šok
 - mortalita kolem 5%, více jsou ohroženi nezralí novorozenci
 - pozdní infekce
 - většinou sérotyp III.
 - dostavují se koncem 1.měs. života
 - probíhá pod obrazem sepsy, meningitidy
 - smrtnost přes 10%

- komplikace v šestinedělí
 - endometritidy, infekce moč. cest, bakteriémie po císařském řezu vedoucí až k endokarditidě, meningitidě, k tvorbě abscesů
- osteomyelitidy – u kojenců nejčastější původce
- cystitidy, pyelonefritidy – u starších dětí, dospělých
- pneumonie, endokarditidy, artritidy, infekce ran, osteomyelitidy, vzácné meningitidy – u imunokompromitovaných
- může se někdy vyskytnout v krku klinicky zdravých jedinců

Léčba

- ampicilin (1. volba)
- citlivý na penicilin
- u alergie cefalosporiny, linkomycin, vankomycin

Epidemiologie

- asymptomaticky kolonizuje HCD, rodidla, rektum, uretru
- výskyt v rodidlech u 5-10 % žen, častěji s diabetem a nitroděložní antikoncepcí
- k infekci dochází buď prenatálně (často při předčasném puknutí vaku blan) nebo až v průběhu porodu
- k přenosu dochází asi u 50 % novorozenců infikovaných matek, manifestní onemocnění se však vyskytne jen u 1-2 % kolonizovaných novorozenců
- zdrojem pozdní infekce není vlastní matka, ale jiný novorozenec, jiná matka nebo ošetřující personál

Prevence

- infekci lze zabránit podáním penicilinu nebo ampicilinu rodičce během porodu
- někde se aplikuje každé rodičce, kdy lze počítat s vyšším rizikem infekce (protrahovaný porod apod.), jinde pouze při nález *S.agalactiae* při mikrobiologickém screeningu těhotných

Laboratorní průkaz

- pouze přímý průkaz
- materiál - likvor, krev, moč, hnis
 - novorozenec: výtěr z nosohltanu, ucha, spojivky, konečníku, kůže, pupečníku, krev
 - matka: výtěr z pochvy, cervixu, plodová voda, moč, stolice
- kultivace – krevní agar doplněný stafylokokovou čarou, kde pozitivní CAMP-fenomén zachytí i nehemolytické kmeny; aerobně při 37°C
- latexový test podezřelých kolonií na přítomnost skupinově specifického antigenu B

Ostatní beta-hemolytické streptokoky

Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimillis

- skupiny C a G
- faktory virulence podobné jako *Streptococcus pyogenes*
- způsobuje hlavně faryngitidy a tonsilitidy
- u disponovaných jedinců může vyvolat i sepse, nekrotizující záněty fascií, pneumonie, epiglottitidy, meningitidy, mozkové abscesy, osteomyelitidy, hnisavé artritidy, endokarditidy

- pozdní následky nejsou známe
- roste v koloniích podobných *Streptococcus pyogenes*, výrazná beta-hemolýza
- CAMP test, PYR test i hippurát - všechny negativní

Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus

- skupina C
- povrchový protein blízký M-proteinu, brání fagocytóze a podněcuje tvorbu opsonizačních protilátek
- u zvířat vyvolává mastitidy skotu
- u lidí vyvolává infekce hlavně po konzumaci nepasterizovaného mléka a mléčných výrobků - faryngitidy a řadu podobných nákaz jako *Streptococcus dysgalactiae*
- po infekci může nastat glomerulonefritida

Streptococcus canis

- skupina G
- patogen psů, u člověka popsány sepse nebo meningitidy
- pozitivní CAMP test

Streptococcus porcinus

- skupiny E, P, U nebo V
- může působit infekce urogenitálního traktu, řídce infekce kolem porodu
- pozitivní CAMP test, skupiny nelze identifikovat latexovou aglutinací

Streptococcus iniae

- skupina Z
- izolován z ryb a delfínů
- u osob zpracovávajících kontaminované ryby vyvolal septické onemocnění
- pozitivní CAMP i PYR test

Skupina *Streptococcus anginosus*

- skupiny A, C, F nebo G
- beta-hemolytické jsou jen některé kmeny
- může působit infekce urogenitálního traktu, infekce GIT, faryngitidy, mozkové/jaterní abscesy, artritidy, peritonitidy

20. Rod *Streptococcus* – viridující skupina

Streptococcus pneumoniae

- non-beta-hemolytický streptokok (viridující = alfa-hemolýza)
- hlavní původce komunitního zánětu plic

Morfologie

- G+ kok ovoidního tvaru, opouzdřený
- vyskytuje se jednotlivě, ve dvojicích a ve velmi krátkých řetízích, obvykle složených z dvojic koků; kolem dvojic široké nezbarvené pouzdro
- dvojice lancetovitého tvaru – odvrácené konce koků ve dvojici jsou zašpičatělé

Kultivace a fyziologie

- půdy - obohacené a dostatečně vlhké
 - kolonie hlenovité, bezbarvé, nepravidelného tvaru připomínajících kapky oleje (=růstová M fáze)
 - při snížené tvorbě pouzderného polysacharidu jsou kolonie asi 1mm velké, lesklé, zpočátku vypuklé (=S fáze)
 - nejstarší buňky uprostřed kolonie začnou postupně autolyzovat, střed kolonie se propadá a kolonie tak získává typický mištičkovitý profil
 - netvoří-li kmen pouzdro vůbec, vyrůstá v drsné R-fázi a jeho kolonie nejsou příliš k rozeznání od kolonií dalších viridujících streptokoků
 - všechny typy kolonií vyrostlých za přístupu kyslíku jsou obklopeny poměrně širokou zónou alfa-hemolýzy
- v bujónu rostou jako ostatní streptokoky v sedimentu, půda nad ním je zůstává čirá
- růst pneumokoků podněcuje přidavek krve nebo séra, zvýšená tenze CO₂, jako nezbytný se jeví cholin
- při kultivaci za přístupu vzduchu se v kultuře tvoří velké množství organických kyselin a peroxidu vodíku
- protože pneumokok nemá katalasu, nahromaděný H₂O₂ starou kulturu usmrtí
- za anaerobních podmínek vzniká kolem kolonií vlivem pneumolysinu O hemolýza-beta
- přidání žluči nebo žluč. solí (deoxycholátu sodného) k narostlé kultuře aktivuje autolytické enzymy a pneumokoky se začnou rozpadat, tekutá kultura se vyčeří, kolonie se rozpustí
- na rozdíl od většiny ústních viridujících streptokoků se pneumokoky nemnoží v přítomnosti optochinu
- u kmenů v S-fázi se vyskytují variace v opacitě (kalnosti) kolonií. Rozeznáváme kolonie opakní a transparentní:
 - opakní – bývají větší, bělavé, spíše vypouklé, protože tak rychle nepropadají autolýze. Lépe odolávají účinku deoxycholátu. Opakní fenotyp je způsoben zvýšenou tvorbou pouzderného polysacharidu a povrchového proteinu A. Je virulentnější (experimentálně naočkovanou myš zabije o 2-3 dny dříve než transparentní)
 - transparentní – o něco menší, průhledné a bezbarvé. V bun. stěně obsahuje vyšší množství kys. teichoové a polysacharidu C, jakož i cholin-vázacího proteinu. Lépe adheruje na různé buňky a snáze kolonizuje nosohltan.
- obě varianty spontánně přecházejí jedna v druhou

Antigenní stavba

- pouzderní (kapsulární) polysacharid: na základě jeho antigenní stavby se rozeznává přes 90 sérotypů; protilátky proti jednotlivým sérotypům jsou protekční
- F-antigen (Forssmanův): obsahuje kys. lipoteichoovou a cholin
- C-polysacharid: polymer kys. teichoové, složka bun. stěny; reaguje s ním CRP (nemýlit si s antigenem beta-hemolytických streptokoků! společný je jen název)

Faktory virulence

- polysacharidové pouzdro – ochrana před fagocytózou, hlavní faktor virulence. V experimentu jsou pneumokoky v M- a S-fázi vysoce virulentní pro myš, u níž vyvolají smrtelnou generalizovanou infekci. Naproti tomu R-fáze bez polysacharidové substance jsou zcela avirulentní a snadno fagocytovatelné.
- adheziny:
 - pneumokokový povrchový adhezín A – adhezenční
 - pneumokokový povrchový protein C - adhezenční, udržení nosičství
 - cholin vázající protein A (CBPA) - adhezenční, invazivní - překonání hematoenc. bariéry
- invaziny:
 - hyaluronidasa - invazivní, důležitá v patogenezi meningitidy
 - neuraminidasa – odštěpováním zbytků kys. sialové jednak poškozuje tkáň, jednak odhaluje další receptory pro adheziny
 - pneumokokový povrchový protein A - antifagocytární, získávání železa
- pneumolysin - z rozpadajících pneumokoků, antifagocytární, prozánětlivý, poškozuje tkáň (bronchiální a alveolární epitelie – aktivuje zde fosfolipasu A, která štěpí fosfolipidy membrán)
- autolysin - štěpí buň. stěnu, prozánětlivý. Odpovídá za autolýzu na konci logaritmické fáze růstu a za lýzu stěny vyvolané deoxycholátem nebo beta-laktamovými ATB. Rozpadem pneumokoků se do jejich okolí uvolní jednak pneumolysin, jednak součásti bun. stěny, které působí prozánětlivě.
- polysacharid C – prozánětlivý (aktivuje alt. dráhou komplement), přispívá k perzistenci pneumokoka na sliznici dých. cest

Patogeneze

- pneumokoky přítomny v nosohltanu 10% zdravých dospělých
- pneumokoková pneumonie – obvykle následek porušení obranyschopnosti dých. cest:
 - během celkové anestezie, po podání morfia, během těžší opilosti
 - při nachlazení, virové infekce poškozuje funkci řasinek (chřipka)
 - poruchy cirkulace – hromadění tekutiny v alveolech, v níž se pneumokoky mohou množit
- z postižených plic pneumokoky mohou proniknout:
 - do pleurální dutiny a vytvářet tam hnisavá ložiska – empyém
 - do krve – vzniká bakteriémie – přenos infekce na meningy, srdeční chlopně, do kloubů
- z nosohltanu mohou proniknout do sinusů nebo středního ucha a vyvolat tam hnisavý zánět. Ke vzniku otitidy přispívá uzavěr Eustachovy trubice po příp. předchozím virovém zánětu; ze středního ucha se mohou pneumokoky dostat do spánkové kosti a na meningy
- pro invazi mening jsou lépe vybaveny varianty transparentního fenotypu. Zánět vede k otoku mozku, zvýšený nitrolební tlak omezí průtok krve, následuje ischemie a ztráta funkce neuronů

Imunita

- v obraně proti pneumokokům je nejdůležitější fagocytóza
- opsonizace bakteriálního pouzdra CRP proteinem a složkami komplementu (alt. dráha) – napomáhá odstraňování pneumokoků slezinými makrofágy (u asplenických pacientů těžší průběh)
- protilátky – IgG proti typově specifickým antigenům pouzdra – umožní polymorfonukleárům pneumokoky fagocytovat a ničit

Patogenita

- komunitní pneumonie
 - nejčastější původce, vyvolává kolem 20% pneumonií v komunitě
 - pneumonie je lobární (postižen celý plicní lalok), nebo ložisková (bronchopneumonie)
 - u dětí nebo starších osob často končí smrtí; letalita u případů s bakteriemií dosahuje 25%
- purulentní meningitida
 - nejčastější původce u osob nad 60 let; po očkování proti hemofilům i u batolat
 - častý po úrazech hlavy
- akutní zánět středního ucha (otitis media acuta) – může projít na proc. mastoideus (mastoiditis) nebo na meningy
- sinusitis – infekce vedlejších dutin nosních, obvykle sekundárně po virové infekci
- rhinitis purulenta
- akutní endokarditida – méně často
- peritonitida, septická arthritida, infekce v malé pánvi u žen

Epidemiologie

- část dětí a dospělých je zdravými nosiči pneumokoků na sliznici nosohltanu, nosu a mandlí
- zdrojem infekcí je člověk
- onemocnění bývá vyvoláno kmenem, který již týdny kolonizoval sliznici nemocného
- infekce vyvolaná čerstvě přeneseným kmene bývá u dětí
- z více než 90 typů pneumokoků jen cca 20 typů vyvolává 80% vážných infekcí

Prevence

- 23valentní chemovakcína obsahující purifikované polysacharidy 23 nejčastějších typů
- spolu s chřipkovou vakcínou indikována pro zvláštní očkování pracovníků léčených dlouhodobě nemocných, domovů důchodců a ústavů soc. péče
- doporučováno pro pacienty s asplenií, anemií, imunosupresí, onemocněním ledvin
- polysacharidové vakcíny obecně nefungují dobře u dětí do 2 let, které špatně tvoří protilátky proti polysacharidům vůbec a protilátky třídy IgG₂ zvláště; obdobné v pozdním věku

Léčba

- penicilin (lék volby), případně vyšší dávky amoxicilinu
- u meningitid – penicilin, ampicilin, ceftriaxon, cefotaxim, chloramfenikol
- v případě rezistence na penicilin – cefalosporiny III. gen, event. v kombinaci s vankomycinem
- otitis media - amoxicilin

Laboratorní průkaz

- kultivace
 - z krve, CST, synoviální tekutiny, pleurálního exsudátu (viridace)
 - krevní agar se stafylokokovou čarou při zvýšené tenzi CO₂
 - krev na hemokulturu – 3 vzorky po 10ml, odebrané v 1/2hod intervalech
- ověření, druhová identifikace
 - optochinový test – difúzní agarová metoda, min. 15 mm zóna inhibice růstu
 - test rozpustnosti ve žluči
 - sérologická typizace pouzderých antigenů
 - biochemický test – vzácně
- latexová aglutinace – rychlý průkaz antigenů v likvoru
- mikroskopie – ze sputa po obarvení gramem

Streptococcus bovis

- sk. D, většinou nehemolytické
- nalézá se ve stolici pacientů se zhoubnými nádory tlustého střeva
- vyvolává u nich bakteriémie, endokarditidy nativních i implantovaných chlopní, meningitidy, mozk. abscesy – pokud je nalezneme u pacienta v krvi nebo likvoru, je pravděpodobné, že má současně skrytou poruchu GIT

Ústní (orální streptokoky)

- **viridující** streptokoky, alfa-streptokoky
- **G+ koky**, většina součástí normální mikroflóry nosohltanu a dutiny ústní, některé však i ze střev a vaginy

Rozdělení

- přítomnost leucinamidopeptidasy
- nepřítomnost pyrrolidonylaminopeptidasy (PYRasy) – PYRtest negativní
- neschopnost růst v přítomnosti 6,5% NaCl
- druhy: skupina S. mutans: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. downei*,
skupina S. salivarius: *S. salivarius*, *S. vestibularis*
skupina S. sanguinis: *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. parasanguinis*
skupina S. mitis: *S. mitis*, *S. oralis*, *S. peroris*

Patogenita

- typické oportunní patogeny, které se mohou uplatnit jen u disponovaných jedinců
- normální součástí mikroflóry ústní dutiny a částečně i faryngu – brání uplatnění patogenních kmenů (*jako např. S. pyogenes*, *S. pneumoniae*)
- **subakutní bakteriální endokarditida (sepsis lenta)**
 - streptokoky z dutiny ústní, zvláště při onemocněních parodontu, snadno během žvýkání pronikají do oběhu
 - u zdravých jedinců jsou většinou bez problému vychytány
 - jsou-li však srdeční chlopně postiženy např. revmatickou horečkou, streptokoky se usadí a začnou tvořit vegetace
 - při každém tepu se z vegetací uvolňují mikroby a rozsévají se krví do celého těla
 - makroorganismus není schopen vlastními silami vegetaci odstranit, bez léčby končí fatálně
 - *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*
- **bakteriémie**
 - prolongovanou bakteriémií mohou vyvolat ústní streptokoky u neutropeniků (nedostatek neutrofilů) po cytotoxické léčbě, nebo u nedonošených novorozenců (vzácně i meningitida nebo pneumonie)
 - *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*
- **zubní kaz**
 - skupina *S. mutans* (zvláště *S. mutans*, *S. sobrinus*)
 - tvoří enzymy, které štěpí sacharosy z potravy a glukosové zbytky spojují v nerozpustné lepkavé glukany
 - ty jim umožní adherovat na zubní sklovinu a jsou tak základní mezibuněčnou hmotou zubního plaku (spolu s desítkami dalších mikroorganismů)
 - vznik zubního kazu – působením organických kyselin, které tvoří při štěpení sacharidů (při nepřítomnosti sacharidů v potravě syntetizují i intracelulární sacharidy, které následně štěpí)

- ***novorozenecké sepsy, meningitidy***
 - hlavně *S. anginosus*, *S. mitis*, *S. sanguinis* - zdrojem matka
 - především u nedonošených novorozenců
- ***infekce močových cest***

Léčba

- poměrně odolné vůči antibiotikům, tato odolnost dále stoupá
- téměř polovina odolná vůči penicilinu a dalším beta-laktamům, běžným cefalosporinům, erytromycinu a aminoglykosidům
- citlivé na vankomycin, cefotaxim, ceftriaxon, imipenem

Laboratorní průkaz

- kultivace na KA aerobně 37 °C
- biochemické testy - určování druhů se dělá jen při izolaci ze sterilních tělních tekutin, hnisu, sekrečních materiálů
- optochinový test – negativní (ústní jsou rezistentní)

21. Rod *Corynebacterium*

- **G+ tyčinky, fakultativně aerobní, nesporující**, nepohyblivá, katalasa pozitivní, oxidasa variabilní, vysoký obsah guaninu a cytosinu
- způsobují mimo jiné záškrt (*Corynebacterium diphtheriae*)

Morfologie

- mnohá obsahují metachromatická granula
- kyjovitý tvar, dvojice tyčinek svírající tupý úhel („havraní křídla“), palisády (řádky několika tyčinek uspořádaných vedle sebe). Celkový dojem z mikroskopického obrazu se přirovnává k čínskému písmu nebo rozsypanému čaji.
- „**koryneformní tyčinky**“ = „difteroidy“ = G+ tyčinky kyjovitého tvaru
- G+, v některých případech mohou být i gramlabilní

Kultivace

- běžná součást kožní mikroflóry, odolné vůči vyschnutí a vyšší koncentrace soli
- nerostou na Müllerově-Hintonové agaru bez krve
- spolehlivě rostou na KA
- *C. diphtheriae* – roste nejlépe na půdě se sérem a toleruje v médiu teluričitan

Biochemické vlastnosti

- katalasa pozitivní

Rozdělení

- na difterická korynebakteria a ostatní korynebakteria

Patogenita

Difterická korynebakteria

- způsobují záškrt (*diphtheria*)
- *C. diphtheriae* (čistě lidský patogen), zřídka *C. ulcerans* (primárně zvířecí)
- onemocnění vzniká jen když bakterie produkuje toxin, a tento toxin produkuje jen v případě, že je napadena jistým lysogenním bakteriofágem (betafágem)
- záškrt - velmi závažné onemocnění charakteru tonsilitidy nebo faryngitidy, méně často laryngitidy (=croup, čti krup) s otokem a šedozelenými pablánami. Periglandulární edém může zcela setřít kontury hrdla (*collum caesari*)
- také nekrotizující záněty nosní dutiny a sinusů či kožní forma, myokarditida, kraniální nebo periferní neuropatie
- netoxické kmeny se mohou podílet na patogenezi různých zánětů, především kožních

Ostatní korynebakteria

- součástí běžné mikroflóry kůže, mohou ale způsobit infekce ran, případně katetrové sepse nebo postihovat různé vnitřní orgány pokud se dostanou do organismu
- *Corynebacterium jeikeium* – nozokomiální patogen, způsobuje katetrové sepse, endokarditidy, infekce ran; často polyrezistentní na ATB
- další: *C. pseudotuberculosis* (lymfadenitidy, pneumonie, záněty kůže; produkuje sfingomyelinasu)
C. urealyticum (pyelonefritidy, cystitidy, sepse, endokarditidy)
C. amycolatum (ranné infekce, katetrové sepse, endokarditidy)
C. glucuronolyticum (urogenitální infekce u mužů)
C. riegliei (urogenitální infekce u žen)
C. striatum (respirační infekce, infekce ran)

Patogeneze

Záškrt

- vstupní bránou jsou dýchací cesty, inkubační doba je 2-6 dnů, mikrob se množí v epiteliích faryngu
- nástup náhlý s nepříliš vysokou horečkou, nevůlí a bolestí v krku
- vyvíjejí se typické pablány:
 - ♣ tvořené bakteriemi, lymfocyty, plasmocyty, fibrinem a mrtvými bb;
 - ♣ pablána pevně přilne na respirační sliznici a není možno ji odstranit, aniž by nedošlo ke krvácení = typické pro záškrt; pablána může vést k respirační obstrukci a ke smrti udušením, při úzdavě je pablána vykašlána.
 - ♣ její vznik je důsledkem produkce difterického toxinu
- difterický toxin
 - ♣ trojsložkový exotoxin, kódovaný genem *tox*, který je kompletně součástí betafága.
 - ♣ dvě složky slouží k vazbě a prostup přes membránu, třetí složka blokuje proteosyntézu, čímž dochází ke smrti buňky.
 - ♣ produkce toxinu je regulována represorem, ten je aktivován ze přítomnosti vysokých koncentrací Fe a váže se na operátor genu, čímž zabrání produkci toxinu
- kromě dých. systému postižení jiných tkání (myokard, nervové bb.) – tyto buňky obsahují velké množství receptorů, které vážou příslušný toxin
- může nastat nosičství (nastává při vysoké hladině antitoxických protilátek, ale nízké hladině protilátek antibakteriálních)

Ostatní korynebakteria

- do těla se často dostanou arteficiální cestou – žilním přístupem, otevřenou ránou apod.
- faktory virulence spíše nespecifické, za zmínku stojí zejm. hemoliziny (sfingomyelinasa *C.ulcerans*)

Diagnostika

- záškrt - výtěr z krku nebo nasofaryngu (s transportní půdou, př. Amiesova)
 - ♣ na laryngeální výtěr modifikace běžné soupravy (plastová tyčinka je nahrazena ohebným drátkem)
 - ♣ může reflexně dojít k obstrukci dých. cest
- ostatní - hemokultury, kontaminované katetry, výtěry z ran
- při podezření na záškrt – kultivace na selektivně diagnostické půdě – Claubergova s teluričitanem draselným, který inhibuje růst G- bakterií a běžné mikroflóry nosohltanu, *C. diphtheriae* redukuje teluričitan na kovový telur a štěpí glc. Kolonie jsou obklopeny modrým dvorcem a jsou kovově lesklé
- možnost kultivace difterických korynebakterií na Löfflerově půdě se sérem - lépe zde tvoří metachromatická granula a rostou rychleji než jiné bakterie, proto je v prvních hodinách půda téměř selektivní
- ostatní korynebakteria pěstujeme na KA - rostou v šedavých nebo bělavých koloniích, některé hemolyzují
- biochemická identifikace: u závažných nedifterických onemocnění
- Elekův test
 - ♣ k průkazu toxinu
 - ♣ na agar se položí filtrační proužek napuštěný antisérem, kolmo k němu se naočkují kontrolní a testovací kmeny
 - ♣ v případě positivity vznikají v místě křížení proužků a čar šikmé precipitační linie
- průkaz genu *tox* pomocí PCR přímo ve vyšetřovaném materiálu (postupně nahrazuje Elekův test)

Epidemiologie

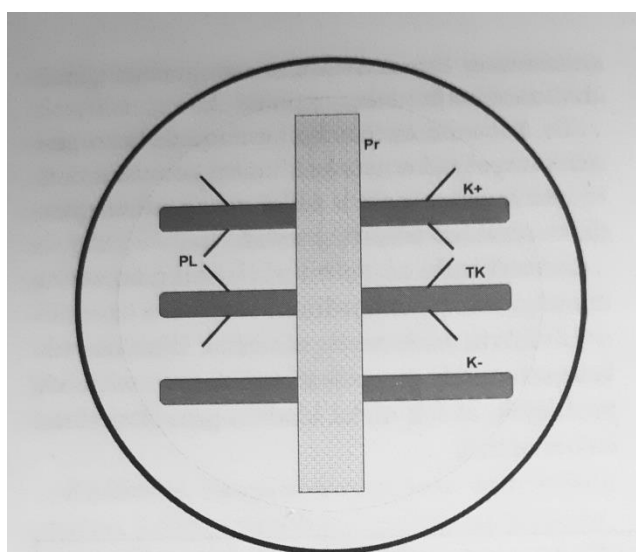
- přenos vzduchem
- zavlečení infekce z endemických oblastí (hlavně uprchlíci ze střední Asie)
- infekce nedifterickými korynebakterií bývají endogenního původu

Prevence

- očkování proti záškrtu je součástí běžného očkovacího kalendáře
- nejčastěji se používá tetrařevakcína - zahrnuje difterický anatoxin (toxoid), tetanický anatoxin, pertusový bakterin a čištěný antigen *Haemophilus influenzae* b
- při přecitlivělosti na některou ze složek jsou k dispozici i divakcíny nebo trivakcíny
- odpověď na očkování může být prověřena Schickovým testem – intradermálně je aplikováno malé množství toxinu. Za normálních okolností nedojde k žádné reakci, neboť neutralizující protilátky ji zabrání

Léčba (terapie)

- v době před ATB – terapie pasivní imunizací koňským či ovčím antidifterickým globulinem
- penicilin, ampicilin, makrolidy, chinolony, rezervní je vankomycin
- penicilin v některých případech působí pouze bakteriostaticky a nestačí k eradikaci mikroba
- na otok hrdla pomáhají kortikoidy, případně tracheostomie jako záchrana života



Obr. 1.10.4 Elekův test na průkaz toxicity *Corynebacterium diphtheriae*

Na čiré agarové médium je naočkována pozitivní kontrola (K+), testovaný kmen či kmeny (TK) a negativní kontrola (K-). Na povrch média je kolmo na kmeny umístěn proužek filtračního papíru, napuštěný antiseptem (Pr). V případě positivity se vytvoří precipitační linie (PL) – důkaz, že daný kmen produkuje difterický toxin.

22a. Rod *Listeria*

- **G⁺ nesporulující aerobní a fakultativně aerobní tyčinky**
- zástupci: *Listeria monocytogenes* (ostatní druhy *Listeria ivanovii*, *L. murrayi* atd)

Morfologie

- krátké rovné G⁺ tyčinky, pohyblivé v prostředí do 25 °C (přítomnost 1-4 bičíků)

Kultivace

- nenáročná, fakultativně aerobní
- schopnost žít v některých extrémních podmínkách (vysoké koncentrace NaCl, žlučových kyselin, nízké teploty – rostou i v chladničce)
- dlouhodobá kultivace při chladničkové teplotě se pro svou selektivitu používá při analýze vysoce kontaminovaných vzorků

Biochemie

- katalasa-pozitivní

Antigenní stavba

- O-antigeny (tělové) a H-antigeny (bičíkové)

Patogenita

- listeriόza - může probíhat bezpříznakově, ale u oslabených osob (AIDS, novorozenci, nádory, senioři, diabetes) závažné následky
- humánní listeriόza se vyskytuje v různých formách
- u dospělých: postižení nerv. systému (meningitidy, meningoencefalitidy), respirační onemocnění (pneumonie), infekce ran, sepse, močová infekce, infekce oka
- listeriόza je nebezpečná pro těhotné ženy, u kterých dochází k septikemickému potratu.
- listeriόza u gravidních žen:
 - horečnaté onemocnění, myalgie, respirační, zažívací potíže, cystopelvitida, vzácně hnisavé meningitidy
 - amnionitida – abort, předčasný porod, porod mrtvého, nebo infikovaného plodu
 - léčba během gravidity – šance pro porod zdravého dítěte
- novorozenecká listeriόza
 - časná infekce získaná v děloze – granulomatosní pneumonie, příp. se sepsí
 - infekce získaná při porodu nebo po něm – meningitidy, sepse

Patogeneze

- inkubační doba je 1 až 4 týdny
- branou infekce většinou trávicí trakt. Listerie pronikají do epitelii střeva, nebo jsou absorbovány Peyerskými plaky. Infekce se šíří z buňky na buňku, nebo dochází ke generalizaci krví
- intracelulární přežívání bakterií – umožňuje to několik internalinů
 - internaliny In1A – zprostředkovávají adhezi a invazi do epitelii prostřednictvím specifické interakce s receptorem hostitelské buňky (E-cadherin)
 - internaliny In1B – obsahuje místo bohaté na leucin, díky němu se váže na receptor hostitelské buňky pro hepatocytový růstový faktor
- protein PrfA – regulátor faktorů virulence, které se uplatňují při působení bakterií uvnitř buňky
- listeriolysin O – hemolysin, slouží nejen k invazi, ale je nezbytný pro přežívání uvnitř fagosomu a únik z něj. Jedná se o cytolyzin tvořící póry v membráně (příbuzný streptolysinu O streptokoků)
- fosfolipasa C

Epidemiologie

- zvířata, ptáci, ryby a volně ve vnějším prostředí
- infekce člověka zpravidla alimentárně, vektor nákazy – sýry, hotová jídla z chladničky; dále profesionální nákaza při práci se zvířaty

Prevence

- specifická prevence neexistuje (těhotné-vyhýbat se rizikovým potravinám)

Diagnostika

- hemokultura, mozkomíšní mok, amniová tekutina, gynekolog. materiály, biopsie, popř. analýza potravin
- mikroskopie – důležitá zejména u likvoru
- kultivace na KA - kolonie drobné, šedavé, někdy náznak beta-hemolýzy
 - kolonie podobné koloniím enterokoků, *Streptococcus agalactiae* či některých korynebakterií
 - diferenciální diagnostika spočívá v katalasovém testu (neodliší korynebakteria, ale enterokoky a streptokoky ano)
 - dále kultivace na žluč-eskulinové půdě (to zase odliší korynebakteria, ale ne enterokoky)
- diagnostika na selektivních chromogenních půdách, kde jednotlivé druhy rostou v typicky zbarvených koloniích
- další druhové odlišení pomocí schopnosti štěpit různé cukry
- PCR – popsáno několik genů specifických pro *L. monocytogenes* (iap, hlyA)
- nepřímá diagnostika
 - aglutinace – může se však jednat o zkříženě reagující protilátky proti jiným G+ bakteriím, nutno doplnit kultivací

Léčba

- ampicilin (lék volby)
- fluorované chinolony a azithromycin – vynikající průnik do buňky
- primárně rezistentní k cefalosporinům (jako enterokoky)

Využití listerií

- vhodný organismus k přípravě rekombinantních vakcín (HPV)

22b. Rod *Erysipelothrix*

- **G+ nesporulující fakultativně anaerobní tyčinky**
- jediný druh patogenní pro člověka: **Erysipelothrix rhusiopathiae**

Morfologie

- rovné nebo lehce zahnuté štíhlé tyčinky se zaoblenými konci, délka 0,8-2,5 μm
- uspořádány jednotlivě, v párech nebo v řetízích
- v R-fázi můžeme pozorovat i vlákna dlouhá až 60 μm
- netvoří pouzdra, nesporuluje, nepohyblivá

Kultivace

- náročné kultivační podmínky
- na KA drobné kolonie připomínající kolonie alfa-hemolytických streptokoků
- lépe vyrůstají na tuhých půdách obohacených glc nebo sérem
- za alkaličtějších pH 7,2-7,6 a v prostředí s 5-10% CO₂

Biochemie a odolnost

- tvoří sirovodík
- katalasa i oxidasa negativní
- pomalu štěpí glc bez tvorby plynu
- množí se až do pH 9,2 a v rozmezí teplot 5-42°C, tolerance až 8,5% NaCl
- přežívá chlazení, mrazení, nakládání či solení zvířecích tkání

Patogenita

- produkce hyaluronidasy a neuraminidasy (neuraminidasa má pro virulenci větší význam)
- je patogenní i pro zvířata (ovce, koně, psi, drůbež, ryby), onemocnění je přenosné na člověka
- způsobuje nemoc „červenka prasat“ = rhusiopathia (*erysipelas suum*), probíhá v několika formách:
 - lokální kožní léze = **erysipeloid** - lokální bolestivá ostře ohraničená celulitida bez hnisání, často s regionální lymfangoitidou a artritidou přilehlého kloubu
 - může se generalizovat, sepse a endokarditidy časté u alkoholiků
- imunita po onemocnění nevzniká

Epidemiologie

- *zoonóza* = onemocnění zvířat přenosné na člověka (ohrožení řezníci, veterináři, prodáváči ryb)
- infekce proniká do těla poraněnou kůží

Prevence

- dodržování hygienických zásad a užívání desinfekčních prostředků, zvířata jsou očkována

Léčba

- citlivá k penicilinu (1. volba), cefalosporinům, klindamycinu

Laboratorní průkaz

- přímý průkaz původce kultivací a mikroskopickým vyšetřením
- nová metoda PCR

23. Rod *Bacillus*

- **G+ sporulující aerobní tyčinky**
- průměr 0,5 – 1,2µm, délka 10µm
- pohyblivé díky peritrichálně umístěným bičíkům
- schopnost tvořit jednu endosporu, sporulace probíhá pouze za přítomnosti kyslíku (energii pro sporulaci získává oxidací zásobních lipidů z cytoplazmy)
- rozdělení:

první skupina:

- nízké nutriční nároky
- spory elipsoidní, nezpůsobují zduření sporangia
- bb s větším průměrem (*B. megaterium*, ***B. cereus***, *B. thuringiensis*, ***B. anthracis***)
- bb s menším průměrem (*B. subtilis*, *B. pumilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*)

druhá skupina:

- sporangium sporami zduřelé
- spory elipsoidní (*B. circulans*, *B. macerans*, *B. polymyxa*)

třetí skupina:

- sporangium sporami zduřelé
- spory sférické (*B. sphaericus*)

- kultivace: nenáročná, roste na běžných půdách
- produkce katalasy, proteolytických enzymů hydrolyzující kasein a želatinu, amylolytických enzymů štěpících škrob a pektiny
- biochemické testy (zkvašování cukrů – glc, maltosa, sacharosa, manitol,...)
- syntéza lecithinasy (*B. cereus*) a hemolyziny (*B. cereus*)
- produkce antibiotik polypeptidové povahy (bacitracin, gramicidin, polymyxin)
- obligátně patogenní, původce antraxu – *Bacillus anthracis*
- enterotoxikózy – *Bacillus cereus* (infekce očí, infekce ran, sepse, endokarditidy, osteomyelitidy, meningitidy, pneumonie)
- ostatní jen nízké patogenní, uplatnění u lidí se sníženou imunitou
- díky sporám, které jsou hojně přítomny v prostředí často kontaminují klinický materiál

Bacillus anthracis

- původce antraxu neboli sněti slezinné, postihuje především dobytek a je přenosné na člověka

Morfologie

- velké nepohyblivé G+ tyčky s konkávními konci, tvoří řetízky připomínající bambusovou hůl, mohutné pouzdro
- centrálně uložené vysoce rezistentní spory se tvoří jen za přítomnosti kyslíku
- (v živém organismu k tvorbě spor nedochází)

Kultivace

- běžné půdy, široké rozmezí teplot (12-45° C s teplotním optimem 35° C)
- kolonie ploché, šedobílé a plstnaté s dlouhými výběžky z řetězců bacilů (vzhled kolonie připomíná hlavu medusy – caput medusae)
- na krevním agaru nehemolyzuje, mohutné hlenové pouzdro in vivo (in vitro v přítomnosti CO₂)
- fakultativně anaerobní

Epidemiologie

- hojně rozšířené do 20. století; zavedeny protiepidemické opatření – očkování ve veterin. praxi
- v současnosti teplé oblasti (Afrika, Blízký východ, v Evropě – Středomoří, Balkánský poloostrov)
- spory přežívají v půdě, postižení především býložravci, u nichž má těžký průběh a vysokou smrtnost
- člověk se nakazí kontaktem se zvířaty (nemocnými nebo uhynulými), příp. s jejich produkty (kůže, chlupy, vlna, kosti); mezilidský přenos je málo pravděpodobný
- bioterorismus (snadná příprava rezistentních spor, jednoduchá aplikace-vdech, vysoká smrtnost,,)

Patogeneze

- po průniku spor do organismu odchází k jejich klíčení a produkci toxinu, který je zodpovědný za tvorbu hemoragické nekrózy s edémem v místě infekce
- zvětšení regionálních lymf. uzlin,
- lymf. cestou průnik do krevního oběhu, rozvoj septicko-toxického šoku a kardiopulmonální selhání

Faktory virulence:

- antraxový toxin – chová se jako superantigen, skládá se z:
 - edemogenní faktor (I. faktor): kalmodulin-dependentní adenylátcykláza; působí zvýšení cAMP – metabolický kolaps buňky, únik iontů a tekutin
 - protektivní antigen (II. faktor): zprostředkovává průnik I. a III. faktoru přes buň. membránu endocytózou
 - letální faktor (III. faktor): proteolytická aktivita - uvolňování mediátorů zánětu, destrukce buněk, působí na imunitní systém
- pouzdro - chrání před fagocytózou

Klinika

- klinické formy podle vstupu infekce
- inkubační doba 2-7 dní (u plicní formy podstatně zkrácena)
- kožní forma (95%)
 - průnik spor do poškozené kůže, klíčení, produkce toxinu
 - vzniká svědicí papula, která se za 2-6 dní změní na vřed obklopený silným edémem a hemoragickou nekrózou v centru = *pustula maligna*,
 - léze je nebolestivá, bez horečky, regionální lymfadenitida
 - vede až k sepsi je-li neléčena; smrtnost neléčené formy 5-20%
- plicní forma
 - vyvolána částicemi menšími než 5µm, kt. pronikají až do alveolů a usazují se tam,
 - spory jsou plicními makrofágy přeneseny do mediastinálních uzlin, kde klíčí
 - rychle se rozvíjí hemoragická nekróza uzlin s mediastinitidou a vysokou bakteriemií.
 - zpočátku nespecifické chřipkovité příznaky
 - dostavuje se septický šok a respirační selhání, smrt během několika hodin až dnů,
 - léčba ATB jen v časných stádiích, v pozdějších stádiích je téměř neúčinná
 - nejde tedy o zápal plic, obsah bakterií ve sputu je zanedbatelný (nedochází k šíření infekce kapénkami); pacient umírá dříve než se rozvine sekundární pneumonie
- střevní forma
 - požitím kontaminované potravy, méně často, obtížně diagnostikovatelná
 - nauzea, zvracení, horečka, prudké bolesti břicha, krvavé průjmy
 - dojde-li k septikémií – pacient rychle umírá
 - úmrtnost 50%
- orofaryngeální forma (vzácně)
 - primární léze - mandle, ústní dutina

Léčba

- penicilinová antibiotika (amoxicilin, penicilin G)
- při alergii na PNC - ciprofloxacin, doxycyklin, erytromycin
- citlivé i na vankomycin, aminoglykosidy, chloramfenikol

Prevence

- veterinární opatření – kontrola zvířat a jejich produktů, vhodná likvidace těl uhynulých zvířat, vakcinace dobytka
- onemocnění podléhá povinnému hlášení
- očkování lidí – toxoid (protektivní antigen)
- po expozici prachu či aerosolu se sporami – profylakticky amoxicilin; dále ciprofloxacin, doxycyklin; po dobu 60 dnů

Vyšetření

- krev na hemokulturu - při všech formách
- stěry z pustul (kožní forma), vzorky stolice a biopsie (střevní forma)
- sputum NE! (v časně fázi plicní formy tam bakterie nejsou, pouze v pozdní fázi)
- průkaz mikroskopicky – Gramovo barvení
- kultivace – krevní agar, typické kolonie bez hemolýzy
- perlový test - na půdách s nízkou koncentrací penicilinu vzniká poškozením bun. stěny tzv. balónovitá degenerace vegetativních buněk
- průkaz antigenů v postižených orgánech - přímá imunofluorescence, PCR
- virulenci příslušného kmene lze prokázat podkožní aplikací mikroba morčatům či myším – zvíře uhynie do 2-3 dnů, slezina je výrazně zvětšena, plná opouzdřených bakterií
- vyšetřování vzorků probíhá v specializovaných laboratořích

Bacillus cereus

Morfologie

- G⁺ tyčinka, neopouzdrěná, pohyblivá s peritrichálním umístěním bičků
- centrální uložení spor, které nezduřují tyčinku

Kultivace

- kultivačně nenáročná, fakultativně anaerobní
- růst v širokém rozmezí 8-55°C (optimum 28-35°C), pH 4,9 - 9,3
- běžné půdy - velké plstnaté kolonie s nepravidelnými okraji, na KA se zónou beta-hemolýzy
- selektivně diagnostická půda PEMBA (obsahuje polymyxin, vaječný žloutek, mannitol, bromthymolovou modř, agar)
 - rezistence k polymyxinu, který zároveň potlačuje kontaminaci
 - nezkvašuje mannitol, indikátor (bromthymolová modř) proto nezmění barvu a kolonie jsou proto typicky tyrkysově modré
 - tvoří se precipitát v okolí kolonie – lecithinasa sráží žloutek

Epidemiologie

- běžná součást střevní mikroflóry člověka
- spory hojně v půdě, vodě, rostlinách
- často kontaminují potraviny, infekce však vzniká až při pomnožení v potravine na množství kolem 10⁷/g

Patogenita

- **alimentární enterotoxikóza** – vzniká požitím kontaminovaných potravin, ve kterých se *B.cereus* množí a produkuje enterotoxiny zodpovědné za klinické příznaky
- **endoftalmitida** - proteolytickými enzymy rozpustí obsah oční koule = ztráta celého oka. Vzniká po poranění oka, fulminantní průběh.
- jako oportunní patogen u imunokompromitovaných – infekce ran, sepsi, endokarditida, meningitida, infekce GIT

Patogeneze

- fosfolipasa C
- dva hemoliziny – cereolysin (oxygenlabilní), hemolysin II (oxygenstabilní)
- enterotoxiny: vedou ve střevní buňce ke zvýšené tvorbě cAMP a cGMP, dochází ke ztrátě vody a rozvoji průjmu; dráždění vagu v žaludku způsobuje nauzeu a zvracení
 - toxin průjmového syndromu
 - termolabilní protein, citlivý na proteolytické enzymy (pepsin, trypsin)
 - zvyšuje permeabilitu cév, nekrotizační účinky
 - vodnaté průjmy, koliky
 - příznaky nastupují během 6-16 hod po požití a trvají 6-24 hod
 - v omáčkách a masných výrobcích
 - emetický toxin
 - termostabilní polypeptid, odolný k proteolytickým enzymům i nízkému pH
 - v potravinách obsahujících škrob (těstoviny, rýže)
 - 1-5 hod. po požití – nauzea, zvracení, trvání přes 24hod

Léčba

- jelikož není možné zabránit kontaminaci potravin sporami, je nutno zabránit množení v potravinách (vhodné skladování, úprava)
- léčba enterotoxikóz: symptomatická léčba – rehydratace
- ATB při léčbě invazivních onemocnění – linkosamidy, aminoglykosidy, polypeptidy
- infekce oka: okamžité podání klindamycinu s gentamicinem

Diagnostika

- k vyšetření se posílá podezřelá potravina
- kultivace – krevní agar, při 37°C po dobu 24hod., příp. použití selektivních půd
- signifikantní je nález mikroba v množství větším než 10^5 v 1g
- mikroskopie: barvení intracelulárních lipidových granul
- průkaz toxinu - latexová aglutinace (ve vzorcích klin. materiálu, nebo u izol. kmene), ELISA, pokusy na zvířatech

24. Nesporulující anaerobní bakterie

- gramnegativní tyčinky - *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Bilophila*, *Mobiluncus*, *Leptotrichia*
- gramnegativní koky - *Veillonella*
- grampozitivní tyčinky - *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*
- grampozitivní koky - *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*

G- tyčinky

- většina patří k **běžné mikroflóře** nosohltanu, pochvy, uretry nebo nižších etází GIT
- příležitostně se mohou uplatňovat jako původci **endogenních infekcí**, obvykle spolu s dalšími bakteriemi
- netvoří spory
- **morfologie:**
 - typická je **značná různorodost ve tvaru buněk** - v mikroskopu budí dojem, že jde o zcela jiné druhy; podle mikroskopie není možné ani orientační bližší určení těchto mikrobů
- **kultivace:**
 - jsou velice přísně anaerobní, choulostivé na přítomnost kyslíku
 - **kultivace trvá 3-5 dnů** a používá se **VL-agar** (obohacený o vitamin K, hemin, apod.) nebo **VL-bujon** k pomnožení
- **biochemie:**
 - biochemicky aktivní, aktivita je poměrně pestrá – lze ji proto využít k identifikaci formou komerčních souprav
 - metabolity jsou zodpovědné za výrazný **zápach hnisu** u anaerobních infekcí
- **patogenita:**
 - podmíněně patogenní, vždy endogenní
 - infekce téměř vždy vyvolávány více druhy
 - tendence k tvorbě abscesů s páchnoucím hnisem
- **patogeneze:**
 - mikroby běžné flóry sliznic pronikají při poranění, chir. výkonu apod. na různá místa organismu
 - pokud jsou zde vhodné podmínky (poškozená hypoxická tkáň), mohou se zde uchytit a pomnožit
 - při patogenезi se uplatňují enzymy (elastáza, kolagenasa, heparinasa) spolu s **kyselými metabolity** (zvyšují hypoxii tkáně)
- **léčba**
 - je důležitý chirurgický zákrok (incize, drenáž)
 - ATB - linkomycin, klindamycin, chloramfenikol nebo penicilin (s inhibitory beta-laktamas)
- **diagnostika**
 - přímý průkaz je založen na mikroskopii, kultivaci a identifikaci na základně biochemické aktivity
 - nepřímý průkaz – neprovádí se

Rod Bacteroides

- gramnegativní tyčinky, anaerobní
- zástupci: *Bacteroides fragilis*, *B. thetaiotaomicron*
- součást běžné mikroflóry GIT, dutiny ústní a pochvy
- typická **různorodost ve tvaru** buněk – zahrnuje kokovité útvary, tyčinky, vlákna
- **nepohyblivé**, většina kmenů tvoří **pouzdra**
- kultivace 3-5 dnů na VL-agaru, **kolonie** jsou **šedavé**, bez hemolýzy, na povrchu mohou být patrné koncentrické pásy
- jsou rezistentní k solím žlučových kyselin
- **patogenita**: podílí se hlavně na infekcích v dutině břišní, malé pánvi, mediastinu, pochvě a dutině ústní
- **léčba**: rezistentní k penicilinu (tvoří beta-laktamasy), **citlivé na rifampicin**
- **léky volby**: karbapenemy (meropenem, imipenem), piperacilin/tazobaktam, tigecyklin

Rod Fusobacterium

- gramnegativní tyčinky, anaerobní
- zástupci: *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium varium*
- velice polymorfní, jejich buňky mívají často podobu vlákna, uprostřed jakoby zduřelá, se zašpičatělými konci
- součást běžné mikroflóry horních cest dýchacích, GIT a pochvy
- hlavním produktem metabolismu je kyselina máselná
- **léčba**: karbapenemy (meropenem, imipenem), piperacilin/tazobaktam

Fusobacterium nucleatum

- izolován nejčastěji
- spolu s jinými bakteriemi zapříčiňuje pleuropulmonální infekce - hrudní empyém, plicní abscesy, aspirační a nekrotizující pneumonie
- dále mozkové abscesy, chronické sinusitidy, jaterní abscesy, intraabdominální infekce, septické artritidy, osteomyelitidy, apod.

Fusobacterium necrophorum

- dovede způsobit i závažná onemocnění jako **jaterní abscesy** nebo různé **tkáňové léze**

Fusobacterium mortiferum, *Fusobacterium varium*

- rezistentní na klindamycin a některé další látky běžně užívané proti anaerobům

Ostatní fusobakterie

- uplatňují se velmi vzácně
- spolu s ústními spirochetami způsobují u oslabených osob **fusospirochetózy**
 - endogenní infekce, typické gangrenózním rozpadem tkáně (např. **noma**)

Rod Prevotella

- výrazný černý pigment bez fluorescenčních vlastností
- **biochemie:** schopnost fermentace glukózy a dalších cukrů
- **zástupci:** *Prevotella melaninogenica*, dále *P. denticola*, *P. bivia*, *P. intermedia*
- **patogenita:** infekce horních cest dýchacích – především anginy a sinusitidy
 - jsou to právě ty případy angín, jejichž klinický obraz jasně svědčí pro bakteriální etiologii, avšak běžná aerobní kultivace je opakovaně negativní, neboť na účast anaerobů se nepomýšlí
- dále aspirační pneumonie, plicní absces, mozkový absces
- **beta-laktamové antibiotikum** (karbapenemy, piperacilin/tazobaktam, penicilin G), alternativně klindamycin, doxycyklin. Mohou tvořit beta-laktamasy!

Rod Porphyromonas

- zahrnuje pigmentované kmeny, vykazujících slabou sacharolytickou aktivitu (nedovedou fermentovat glukózu ani jiné cukry)
- kolonie: hnědočerně pigmentované, pigment v UV světle fluoreskuje
- zástupci: *P. gingivalis*, *P. asaccharolytica*, *P. endodontalis*
- běžně osídlují dutinu ústní, příp. urogenitální trakt – infekce vyvolávají v těchto lokalizacích

Rod Bilophila

- jediný zástupce: *Bilophila wadsworthia*
- morfologie prakticky stejná jako u rodu *Bacteroides*, včetně polymorfie buněk
- poměrně pomalu – za 4 dny – vytváří kolonie – drobné, šedavé
- silná katalasová reakce, je nesacharolytický, netvoří beta-laktamasy
- snáší obsah žluči v prostředí, až do koncentrace 20%
- bývá izolována z materiálů jako punkáty, krev, výpotky a hnis z různých míst organismu

Rod Mobiluncus

- gramlabilní až gramnegativní zakřivené, pohyblivé tyčinky (lat. *mobilis* – pohyb, *uncus* – hák)
- stavba zevní části buněčné stěny je podobnější stěně grampozitivních bakterií, než gramnegativních
- u zdravých žen kolonizují vaginu, ale mohou zde vyvolat bakteriální vaginózu
- zástupci – *M. curtisii*, *M. mulieri*
- kultivace náročná – média obohacená krví, kde vytvoří 2-4mm kolonie kolem 5 dnů..

Rod Leptotrichia

- gramnegativní až gramlabilní tyčinky
- součást běžné mikroflóry dutiny ústní
- nejznámějším je *Leptotrichia buccalis* – jen velmi vzácně se uplatní jako patogen

G- koky

Rod Veillonella

- zástupci: *V. parvula*, *V. alcalescens*, *V. atypica*, *V. caviae*, *V. criceti*, *V. dispar*, *V. ratti*, *V. rodentia*,
- gramnegativní koky, anaerobní
- velmi drobné, uspořádané do dvojic nebo menších shluků
- většina patří k **běžné mikroflóře** dutiny ústní, nosohltanu, případně i střeva a pochvy
- mohou se účastnit na **smíšených infekcích** endogenního původu
- jediným prokázaným patogenem je *V. parvula* - izolována z krve při **sepsích** nebo **endokarditidách**

G+ tyčinky

- platí pro ně obecná charakteristika uvedená u G- tyčinek
- většinou jsou součástí **běžné mikroflóry**: dutiny ústní, nosohltanu, tlustého střeva, pochvy, kůže, apod.
- příležitostně mohou vyvolat endogenní infekce nebo být součástí smíšených endogenních infekcí
- **morfologie**: tyčinky (často bizarních tvarů – rozštěpené, kyjovité..) až větvené vlákna (s tendencí k rozpadu na kokovité útvary)
- často lze pozorovat (hlavně u vláken) ztrátu barvitelnosti (výpadky barviva) nebo gramlabilitu
- kultivace může být náročná, některé rostou poměrně dlouho (i déle než týden - *Aktinomyces*)
- v diagnostice je důležitá mikroskopie nátěru zhotoveného z odebraného vzorku

Rod Eubacterium

- grampozitivní tyčinky, anaerobní
- zástupci: *E. lentum*, *E. nodatum*, *E. tortuosum*
- součást běžné mikroflóry dutiny ústní, pochvy a střeva
- většinou plicní a intraabdominální abscesy; mohou se podílet na vzniku endokarditid (*E. lentum*)
- léky volby: klindamycin, kombinované aminopeniciliny (ampicilin/sulbaktam, amoxicilin/kys. klavulanová) + gentamicin

Rod Bifidobacterium

- grampozitivní tyčinky (někdy na jednom konci rozštěpené), anaerobní
- součást běžné mikroflóry dutiny ústní a zažívacího traktu
- zástupci: *B. dentium*, *B. breve*, *B. longum*
- *B. dentium*
 - morfologicky podobný aktinomycetám – tvoří vlákna s tendencí k větvení
 - podílí se na vzniku zubního kamene, byl izolován u pacientů s endokarditidou
- *B. breve* a *B. longum* – patogenita nejistá, ale byly izolovány z materiálů u smíšených infekcí

Rod *Propionibacterium*

- anaerobní obdoba rodu *Corynebacterium*
- grampozitivní tyčinky, většinou kyjovitého tvaru
- uspořádány ve formě čínského písma nebo rozsypaného čaje
- součást běžné mikroflóry kůže, dutiny ústní, nosohltanu, GIT a urogenitálního traktu
- schopnost produkovat lipasy - význam ve vzniku a rozvoji akné
- zástupci:
 - *P. acnes* - akné, endokarditidy, sepse, infekce katetrů, apod.
 - *P. granulosum*, *P. avidum*, *P. pionicum* - ostatní smíšené endogenní infekce
- u akné lze lokálně podávat klindamycin, hlavní je správná hygiena/čištění pleti

Rod *Actinomyces*

- viz. samostatná otázka č. 28

G+ koky

- tvoří dvojice, tetrády nebo krátké řetízky
- často se vyskytují jakou **součástí normální mikroflóry** GIT, dutiny ústní, genitálu a kůže
- infekci vyvolávají obvykle spolu s dalšími anaerobními nebo fakultativně anaerobními bakteriemi mikroflóry (= smíšená polymikrobiální infekce endogenního původu) - hlavně **abscesy, peritonitidy, infekce ran (ty mohou vyústit v anaerobní streptokokovou myonekrózu – připomíná klostridiové infekce měkkých tkání)**
- dále endokarditidy, anaerobní pneumonie, sepse...

Rod *Peptostreptococcus*

- grampozitivní koky, anaerobní
- zástupci: *P. magnus*, *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*
- **patogenita**
 - původci poporodních endometritid a zánětlivých procesů v malé pánvi, často následované bakteriémií a sepsí
 - v ústní dutině se podílí na rozvoji periodontitid a peritonsilárních abscesů
 - sinusitidy, otitidy
 - nekrotizující pneumonie a plicní abscesy - při aspiraci z dutiny ústní
 - peritonitidy - pokud se dostane střevní obsah do dutiny břišní, spolu s dalšími mikroby
 - infekce ran, infekce kostí, infekce kloubů, mozkové abscesy, atd.
- **léčba**
 - chirurgické vyčištění ložiska infekce
 - ATB: dobrá citlivost na **peniciliny, cefoxitin, polypeptidy**
 - je potřeba myslet na to, že v ložisku jsou většinou přítomné i jiné bakterie než anaerobní G+ koky

- **laboratorní průkaz**
 - materiál - hnis, punktáty z abscesů, stěry z ran, amniová tekutina apod.
 - důležitý je rychlý transport a zpracování vzorku + omezit kontakt materiálu s kyslíkem na minimum
 - **kultivace** na půdách s nízkým redoxním potenciálem, např. **VL-agar**

Rod *Peptococcus*

- grampozitivní koky, anaerobní
- zástupci: *P. niger*
- v primoizolaci roste v tmavě pigmentovaných koloniích, v dalších pasážích jsou kolonie šedavé
- klinický význam obdobný jako u rodu *Peptostreptococcus* – intraabdominální a plicní abscesy

25. Rod Clostridium - *Clostridium tetani*

Rod Clostridium:

- G⁺ sporulující anaerobní robustní tyčinky, pohyblivé díky peritrichálně umístěným bičíkům
- tvorba oválných nebo kulatých endospor vyklenujících buňku – vysoce rezistentní
- díky tvorbě enzymů (superoxiddismutasa, peroxidasa, katalasa), které neutralizují kyslíkové a peroxidové radikály, jsou některé druhy schopny tolerovat v prostředí malá množství kyslíku (*C. perfringens*, *C. histolyticum*)
- většinou jako saprofyty, ve formě spor přítomny ve vodě, půdě, prachu a kontaminovaných potravinách
- vyžadují nižší redoxní potenciál (kolem -100mV), který umožňuje fungování enzymů účastnících se oxidačně-redukčních procesů
 - z tohoto důvodu se používají půdy s obsahem redukcujících látek (Wilkinsův-Chalgrenův agar)
 - většinu patogenních druhů lze kultivovat i na KA v anaerobní atmosféře
- energii získávají fermentací (anaerobní glykolýza)
- enterotoxikózy, neurotoxikózy, sepse, nekrotizující infekce měkkých tkání

Clostridium tetani

G⁺, sporulující, pohyblivá, anaerobní tvčinka

- produkuje neurotoxin vyvolávající tetanus (česky strnutí šíje) postihující neuromuskulární systém projevující se záchvaty tonických křečí

Morfologie

- rovné, relativně štíhlé G⁺ tyčinky (starší kultury ztrácí grampozitivitu), rozměry 0,5 - 5-7 μm
- okrouhlé vysoce rezistentní spory umístěny terminálně – bakterie připomíná paličku na buben

Kultivace

- KA - za anaerobních podmínek; dobře roste i na jiných běžných půdách
- po 48hod – tvorba kolonií se zónou plazivého růstu v podobě slabého povlaku, slabá β-hemolýza

Epidemiologie

- saprofyty ve střevě savců, zejména koní jako součást jejich mikroflóry (s výkaly se dostávají do půdy, sporuluje a vysoce rezistentní spory v půdě přežívají i staletí)
- člověk se infikuje sporami, kt. jsou zaneseny do rány = exogenní tetanus
- zdrojem spor je i střevo nebo vagina člověka = endogenní tetanus
- ohrožení hlavně starší jedinci s minimální imunitou nebo novorozenci (rány na pupečníku)
- prováděno očkování

Patogeneze

- vstupní branou infekce jsou obvykle hlubší znečištěné rány (např. píchnutí vidlemi), ale i popáleniny, bércový vřed, pahýl pupečníku, operační rána (např. střeva) a nesterilní vpichy u narkomanů
- klíčení spor – nutné anaerobní prostředí s nízkým redoxním potenciálem (př. zhmoždění a ischemizace tkání v okolí rány, hnisavé procesy a cizí tělesa v ráně)
- toxin:
 - zodpovědný za klinické příznaky
 - složen z tetanospasminu a tetanolyzinu (+enzym reninového účinku)

- tetanospasmin
 - vlastní neurotoxin, polypeptid, v jednom antigenním typu
 - proteasy molekulu rozštěpí na dva fragmenty
 - toxický fragment proniká do neuronu přes pór vytvořený druhým fragmentem;
 - poškozuje exkretční aparát neuronů - inhibice uvolňování inhibičních mediátorů (GABA, glycin)
 - tím se sníží práh dráždivosti motoneuronů a zvýší se reflexní odpověď na perif. podněty - tonické křeče příčně pruhovaných svalů
- tetanolyzin - hemolyzin typu streptolyzinu O (vlastnosti hemolytické, leukocidní a dermonekrotické), neúčastní se patogeneze tetanu
- enzym reninového účinku
- uvolňování toxinů do prostředí autolýzou bakteriálních bb
- z rány se vstřebává do krve a lymfy, je resorbován nerv. zakončeními a nerv. svazky se šíří rychlostí asi 7-25 cm/24hod směrem do CNS k motorickým neuronům
- rychlé vychytání toxinu z krve nervovými buňkami neumožní jeho dostatečnou expozici buňkám imunitního systému, prodělané onemocnění nezanechává imunitu

Klinické příznaky

- inkubační doba je 3-30 dnů (obv. 7-14 dnů), kratší mají těžké perakutní formy s horší prognózou
- závažnost klinických projevů je závislá na množství toxinu, lokalizaci a způsobu poranění
- bloádou inhibice motorických neuronů vznikají tonické křeče - bolestivé, časem se prodlužují a jejich frekvence vzrůstá. Postižený zůstává při vědomí.
 - žvýkáci svaly – *trismus* (znemožnění otevření úst)
 - mimické svaly – *risus sardonicus* (výraz sarkastického úšklebu (= svraštělé čelo, snížené koutky, poodhalené zuby)
 - spazmy svalů laryngu a krku – dysfagie a laryngospasmus
 - spazmy svalů trupu – *opisthotonus* (lukovité prohnutí těla kontrakcí zádočných sv.), prknovitá ztuhlost břišních svalů
 - dýchací svaly – vede rychle ke smrti udušením
 - zásah vegetativního nerv. systému – zvýšené pocení, teplota, tachykardie, arytmie
- celý stav může být komplikován pneumonií, atelektázou plic, svalovými rupturami (rhabdomyolýza, uvolněný myoglobin vede k poškození ledvin) a zlomeninami
- může dojít až k srdeční zástavě
- letalita 10-50%, u novorozenců až 90%
- lokální tetanus – křeče jen v oblasti vstupu infekce, relativně benigní průběh

Diagnostika

- založena na klinickém obraze a anamnéze
- mikrobiologické vyšetření vzorku tkáně z rány
 - pozitivita potvrzuje diagnózu, negativita ji ale nevyrací
- mikroskopie – někdy lze prokázat v materiálu z rány jako G+ tyčinka s terminálními sporami
- kultivace – anaerobně na KA, kde se po 48h objeví typický plazivý růst
- toxigenita vypěstovaného kmene se prokazuje neutralizačním pokusem na myších – část zvířat chráněná specifickým antisérem přežívá, nechráněné myši hynou za příznaků tetanických křečí

Léčba

- specifická – lidský antitetanický globulin
 - z krve zdravých dárců aktivně imunizovaných proti tetanu
 - nutno podat rychle, dokud se toxin nenaváže na cílové buňky
 - zásadně i. m., aplikační dávka do jednoho místa max. 10 ml, obměna míst aplikace
 - délka podávání závisí na klinickém průběhu onemocnění

- nespecifická
 - chirurgické ošetření rány – vyjmutí třísek, odstranění nekrotické tkáně
 - podpora dýchání
 - medikamentózní snížení dráždivosti, popř. podání myorelaxancií s kurariformním účinkem
- ATB terapie - penicilin – pouze podpůrný charakter

Prevence

- očkování - aktivní imunizace adsorbovaným nebo precipitovaným toxoidem (anatoxin)
- povinné očkování v prvních dvou letech života spolu s difterii, pertusi, H. influenzae b
 - ve 3 dávkách v intervalech 1-2 měsíce a 4. dávkou v 18. měsíci, v 5. roce ve věku dítěte se aplikuje další dávka této vakciny, další přeočkování tetanickým anatoxinem proběhne ve 14ti letech, potom každých 5-10 let
- novorozenci - hexavakcína (difterie, tetanus, pertuse, hemofilová infekce, poliomyelitida, hepatitida B)

Profylaxe

- řádné chirurgické ošetření všech poranění
 - je potřeba zabránit vytvoření podmínek vhodných pro vyklíčení spor tetanu v ráně
 - odstranit devitalizované tkáně, cizí tělesa atd.),
- pokud od posledního očkování uplynulo víc jak 5 let, aplikuje se anatoxin;
- u osob s poruchou imunity a s rozsáhlými poraněními, u pacientů před operací konečníku nebo střeva aplikujeme ještě antitetanický globulin;
- neproočkované jedince očkujeme třemi dávkami anatoxinu (2. dávka za 6 týdnů, 3. dávka za 6 měsíců)

Epidemiologie

- výskyt sporadický, nešíří se v epidemiích
- ubikvitní onemocnění, vyšší frekvence v tropických krajinách
- člověk není nakažlivý
- *C. tetani* se nachází se asi ve 30 % vzorků střevního obsahu lidí a zvířat, vzácněji na sliznici dutiny ústní, vaginy - cave při chirurgických zákrocích v těchto oblastech

Clostridium difficile

- ve střevě asi u 5% zdravých dospělých, u dětí a kojenců je výskyt vyšší
- toxiny – schopny vyvolat střevní postižení, kt. může proběhnout pod obrazem lehčího průjemového onemocnění, ale také jako život ohrožující pseudomembranózní enterokolitida
- často jako nozokomiální infekce (po léčbě antibiotik, kt. vede k eliminaci střevní mikroflóry; *C.difficile* se tak ve střevě snadno přemnoží a poškozuje střevní sliznici, vede ke klinickým příznakům)

Morfologie

- G+ sporulující anaerobní tyčinky robustní, pohyblivé
- velikost variabilní, vegetativní bb drobné (0,6 x 4-6 µm) nebo velké (1,2-1,6 x 6-16 µm)
- sporuluje ve střevě za přítomnosti žlučových solí

Kultivace a biochemie

- jméno dle obtížné kultivovatelnosti – použití selektivních půd s obsahem cefoxitinu a cykloserinu, kt. potlačují růst doprovodné mikroflóry + anaerobní atmosféra
- kolonie relativně velké, bez hemolýzy, průměr asi 3-5 mm, protažené ve směru očkovací čáry, s nepravidelným drsným povrchem

Patogeneze

- některé kmeny tvoří toxiny A i B, které se do prostředí uvolňují rozpadem bb. (jsou schopny vyvolat postižení střeva, kt. může vyústit v pseudomembranózní enterokolitidu)
- toxin A – enterotoxin
 - poškozuje bb střevního epitelu a způsobuje kumulaci tekutin ve střevě, což má za následek vznik vodnatých někdy hemoragických průjmů
 - poškozuje i bb imunitního systému a chemotaxe, kt. také vyvolává, vede ke vzniku zánětu střevní sliznice)
- toxin B – cytotoxin, nekróza napadených tkání

Patogenita

- pseudomembranózní enterokolitida:
 - toxin A poškodí bb a sníží účinnost IS + toxin B poškozené bb zcela destruuje → vznik nekrotických a ulcerací pokrytých pablánami, objevuje se průjem, bolestivé napětí břicha, zvýšená teplota, může vyústit až v toxické megakolon, v ileus, případně rupturu střeva

Diagnostika

- průkaz ve stolici kultivací na selektivních půdách v anaerobní atmosféře
- průkaz toxigenity daného kmene pomocí latexové aglutinace nebo ELISA
- průkaz toxinu testem na kultuře lidských embryonálních plicních fibroblastů, kde toxin vyvolává výrazný cytopatický efekt NEBO průkaz toxinu ve střevním obsahu
- možno provést neutralizační test se specifickým antisérem

Léčba a prevence

- metronidazol, popř. vankomycin, dále potřeba léčit symptomaticky vhodná dieta / probiotiky

26. Rod Clostridium - *Clostridium botulinum*

- *C. botulinum* zahrnuje poměrně heterogenní skupinu bakterií
- společným znakem je tvorba toxinu se shodným biologickým účinkem, ale různou antigenní strukturou – podle ní se dělí na antigenní typy A-G
- je příčinou botulismu, neboli otravy klobásovým jedem (lat. botulus – klobása)

Morfologie

- velká, rovná, G+ pohyblivá tyčinka o rozměrech 1x10 i více μm

Kultivace a biochemie

- KA – anaerobní podmínky – ploché, drsné kolonie s nepravidelnými okraji a s beta-hemolýzou
- na základě biochemických vlastností se rozdělují kmeny *C. botulinum* na 4 skupiny:
 1. proteolytické mesofilní kmeny tvořící toxiny typu A, B, F; hojně v půdě, na rostlinách a ve střevním traktu savců
 2. sacharolytické psychofilní kmeny produkující toxiny typu B, E, F; ve vodách a u vodních zvířat
 3. kmeny produkující toxin typu C a D + *Clostridium novyi* typ A
 4. proteolytické kmeny produkující botulotoxin typu G + *Clostridium subterminale*

Epidemiologie

- komenzál střevního ústrojí zvířat
- spory v půdě, vodě, prachu a mohou kontaminovat potraviny
- produkce toxinu typu A – kontaminace hlavně ovoce a zeleniny; USA, Čína
B – v masových výrobcích; střední Evropa
E – rybí maso a potraviny z vodních živočichů
- příčiny otravy – kontaminace sporymi hlavně v nedostatečně sterilizovaných masových a zeleninových konzervách domácí výroby
- chladničková teplota a nižší pH sice tvorbu toxinu omezují, nemusí ji však zastavit
- proteolytické kmeny mohou změnit vzhled a další vlastnosti potraviny – lze odhalit závadnost potraviny. Neproteolytické kmeny však vzhled potraviny nemění.
- smrtelná dávka botulotoxinu pro člověka asi $6 \cdot 10^{-8}$ g (0,1 ng/kg živé váhy)
 - na vyhubení lidstva by stačilo pouhých 39g botulotoxinu – nebezpečí bioterorismu

Patogeneze

- pro člověka je toxický botulotoxin typu A, B, E a vzácně F a G; typy C a D vyvolávají onemocnění zvířat, u člověka nepůsobí klinické příznaky
- produkce toxinu probíhá v potravinách, resorpce v horní části tenkého střeva – toxin je odolný vůči nízkému pH a proteolytickým enzymům
- **zahřátí na 100°C po dobu 10min botulotoxin inaktivuje**
- botulotoxin – tvořen dvěma bílkovinnými řetězci spojenými disulfidickými vazbami
 - těžký H-řetězec se váže na nervovou buňku a zprostředkuje průnik lehkého L-řetězce do cytoplazmy
 - lehký L-řetězec - je zinek-dependentní endopeptidasa, hydrolyzuje proteiny zodpovědné za transport vesikul s acetylcholinem – inhibice uvolňování acetylcholinu do synapse
- účinky:
 - paralýza příčně pruhovaných svalů - blokáda přenosu nervového vzruchu na neuromuskulární ploténce
 - reakce vegetativního nerv. systému (dána postižením eferentních cholinergních nervů)
 - k trvalému poškození nedochází
- použití i terapeutické (léčba abnormálního vzestupu sval. tonu) a kosmetické (vyhlazování vrásek)

Klinické příznaky

- **alimentární botulismus**
 - nejčastější forma, po požití toxinu v potravě
 - inkubační doba 12-36 hod, klinické příznaky za pár hodin nebo až 8 dní
 - čím kratší je inkubační doba, tím závažnější je průběh onemocnění a horší prognóza;
 - intoxikace může probíhat mírně, kdy pacient ani nevyhledá lékařskou pomoc, i velmi těžce, kdy smrt nastává do 24hod
 - úmrtnost vyšší u starších lidí, smrtnost u léčených pacientů asi 7,5%
 - onemocnění způsobené toxinem typu A je závažnější
- **traumatický botulismus** – kontaminace rány, u narkomanů
- **kojenecký botulismus**
 - produkce toxinu přímo ve střevě dítěte
 - většinou u kojenců mladších 6 měsíců, živěných především umělou výživou – dochází ke změnám pH stolice a narušení vývoje střevní mikroflóry
 - kromě toho tyto děti nedostávají IgA a další ochranné faktory z mateřského mléka
- **střevní botulismus**
 - ojedinělý, kontaminace střev dospělých, je-li poškozeno (Crohnova choroba)
- **příznaky:**
 - na začátku- GIT příznaky (nevolnost, zvracení, bolest břicha)
 - postižení hlav. nervů – dvojité nebo rozostřené vidění, ptóza, mydriáza, ztížené polykání, poruchy artikulace
 - postižení vegetativního nerv. systému - sucho v ústech, zácpa vyvolaná zástavou střevní peristaltiky, později ileus, zástava močení
 - vědomí a citlivost nezměněny
 - později symetrické sestupné paralýzy příčně pruh. svalů, život ohrožuje ochrnutí dýchacích svalů
 - únava, vyčerpání
 - reflexy sníženy
 - u přežívajících dochází k úpravě stavu do 6-8 měsíců; slabost a vegetativní poruchy přetrvávají déle

Diagnostika

- založena na
 - **klinickém obrazu** pacienta (neurologické příznaky, EMG-záznam)
 - **anamnéza**
 - **laboratorní průkaz** botulotoxinu ve zbytcích potravin, ve zvracích, v krvi, ve střevním obsahu (nejčastěji neutralizačním pokusem na myších – v pozitivním případě hynou myši nechráněné sérem do 24h chabými obrnami)
- izolace kmene, který netvoří toxiny k diagnostice nestačí
- biochemické určení druhu – komerční sada ANAEROTest23

Prevence

- dodržovat předepsané postupy při přípravě konzerv, správného uskladnění a kontrolou potravin, informování obyvatelstva a tepelná úprava rizikových poživatin před konzumací (na zničení stačí 10-15 minut varu)
- onemocnění podléhá povinnému hlášení

Léčba

- včasná aplikace polyvalentního **antitoxického séra** obsahujícího antitoxiny A, B, E
- symptomatická léčba
- u traumatického botulotoxinu je nutné provést chirurgickou revizi rány

27. Rod Clostridium – anaerobní traumatózy

- G+ sporulující anaerobní tyčinky robustní, pohyblivé

- nejčastější původci infekcí měkkých tkání u člověka:

Clostridium perfringens

Clostridium novyi

Clostridium septicum

- dále *C. histolyticum*, *C. sporogenes*, *C. tertium*, *C. sordellii*, *C. fallax*

- infekce jsou často smíšené s doprovodem i jiných bakterií

Patogenita

infekce ran

- rozdělení klostridiových infekcí ran:

- A. infekce ran, kde se klostridia chovají jako běžné pyogenní patogeny nedochází k invazi do měkkých tkání a nejsou přítomny znaky spolupůsobení toxinů (za vhodných podmínek však může tato infekce progredovat)
- B. lokalizované hnisavě-nekrotické procesy s lokálním účinkem klostridiových toxinů při postižení měkkých tkání vně fascie – *epifasciální klostridiová flegmóna* při postižení fascií – *nekrotizující fasciitida* plyn se nachází především v podkoží a mezi svaly systémové příznaky vyjádřeny, ale jsou mírné
- C. vysoce invazivní, nekrotizující procesy s těžkou celkovou intoxikací – *klostridiová celulitida* (postižení kůže a podkoží) a difúzně se šířící nekrózou kůže, podkoží a svalstva (myonekróza) – *plynatá sněť* (*gangraena emphysematosa*). Sněť může postihovat i stěny dutých vnitřních orgánů, např. myonekróza stěny žlučníku, dělohy, nekrotizující enterokolitida apod.

postižení střeva klostridiovými toxiny

- nekrotizující enteritida (*C. perfringens* typ B, C), enterotoxikóza (*C. perfringens* typ A), pseudomembranózní enterokolitida (*C. difficile*)

Epidemiologie

- exogenní zdroj infekce – půda, předměty kontaminované sporami, které se dostanou do rány (válečná poranění, těžké dopravní úrazy, méně často při běžných úrazech)
- endogenní zdroj infekce – klostridia ze střeva pacientů (rizikové jsou operace a poranění trávicího traktu, v dolní polovině břicha a na dolních končetinách, zvláště v okolí rektu). Pooperační infekce je považována za nozokomiální nákazu.

Patogeneze

- pro vznik infekce je nezbytný nízký oxidoredukční potenciál a anaerobní prostředí (nejčastěji – zhmožděné rány s nekrotickými tkáněmi, hypoxií a s přítomností cizích těles)
- spory vyklíčí, bakterie se množí a produkují toxin
- tvorba plynu a edému dále zhoršuje zásobení tkáně kyslíkem
- destrukce leukocytů a okolních tkání enzymy a toxiny vede k šíření infekce do zdravé tkáně

Klinické příznaky

- dostavují se poměrně rychle
- u infekcí *C. perfringens* - do 24hod, u *C. septicum* – za 1-3 dny; u dalších obvykle později
- bolest v ráně, otok, sekrece zkaleného exsudátu z rány, při pohmatu krepitace bublin plynu ve tkáni

- vlivem toxinů a rozkladným produktů dochází k těžké alteraci celkového stavu pacienta a k rozvoji septicko-toxického šoku a poškození vnitřních orgánů
- proces postupuje velmi rychle a pacient může zemřít během několika hodin až dnů

Diagnostika

- předpoklad úspěšné léčby je rychlé stanovení dg
- dg založena na: klinické příznaky, mikroskopické vyšetření materiálu, kultivace
- materiál - nekrotická hmota, exsudát, příp. výtěr z rány)
- z anaerobních bakterií spory tvoří jen klostridia

Léčba

- protišoková terapie – stabilizace pacienta (tekutiny, krev, podpora cirkulace)
- chirurgická terapie - odstranění nekroticky změněných tkání, široké otevření rány a jejích chobotů, odstranění cizích těles
- ATB (ve vysokých dávkách) – peniciliny (penicilin G, širokospektré peniciliny), linkosamidy (klindamycin) a metronidazol
- léčba kyslíkem v hyperbarické komoře
- pasivní imunizace: antigangrenózní globulin GASEA; profylakticky 1 dávka, terapeuticky 2-10

Prevence

- správné chirurgické ošetření ran, vhodná péče o rány, dodržování hygienického režimu na operačních sálech, včasné zahájení antimikrobiální terapie

Clostridium perfringens

- původce:
 - plynatá sněť - nejčastější původce
 - toxikózy trávicího traktu – vyvolané toxiny
- součást normální střevní mikroflóry zvířat i člověka, spory v půdě, mohou snadno kontaminovat potraviny, zvláště maso

morfologie:

- nepohyblivé, poměrně silné ($> 1 \mu\text{m}$) G+ tyčinky různé délky (2-10 μm), někdy opouzdřené
- spory - oválné, subterminální, tyčinku vydouvající; jejich tvorba probíhá ve střevě, nikdy v napadené tkáni

kultivace a biochemie:

- částečně aerotolerantní, enzym peroxidasa umožňuje růst za přítomnosti kyslíku
- typ A – kolonie tvoří v okolí dvojitou zónu hemolýzy (zevní způsobena fosfolipasou C)
- silně sacharolytické; proteolytické enzymy hydrolyzují želatinu; produktem metabolismu je velké množství plynů

toxiny:

- na základě tvořených toxinů lze rozdělit kmeny do toxických typů A až E, u lidských infekcí především typ A
- toxin α (lecithinasa neboli fosfolipasa C)
 - hlavní toxin všech typů *C.perfringens*
 - letální a nekrotizující účinky – rozpad povrchových membrán svalových bb. a leukocytů => rozvoj infekcí měkkých tkání.
 - zvyšuje permeabilitu kapilár => edém, hemoragie

- způsobuje nekrózy jaterních buněk a degenerativní změny myokardu a ledvin
- poškozuje strukturu mitochondrií => destrukce buněk
- na KA zodpovídá za vnější zónu neúplné hemolýzy, na žloutkovém agaru za zkalení půdy kolem kolonií
- enterotoxin
 - termolabilní; produkován do potravin typem A, B, D (jejich termorezistentní spory jsou schopny přežít var)
 - v kontaminovaném masu dochází k jejich pomnožení
 - po požití dochází ve střevě ke sporulaci bakterií a uvolňování toxinů
 - koliky a vodnaté průjmy se objeví během 6-12hod, odezní do 24hod
- toxin β
 - *C.perfringens* typ B, C
 - hemolytická lecithinasa, letální a nekrotizující účinek
 - je inaktivován trypsinem
 - u hladovějících se sníženou tvorbou trypsinu, může vyvolat nekrotizující enterokolitidu a enterotoxemii
 - také u požívání sladkých brambor – obsahují inhibitory trypsinu
- toxin θ (theta) - oxygenlabilní hemolysin příbuzný streptolysinu O, působí vnitřní zónu hemolýzy na KA
- toxin κ (kappa) - kolagenáza (štěpí kolagenní fibrily)
- toxin μ (mí) - hyaluronidáza

patogeneze:

- maligní forma klostridiové infekce: dostatečně velká infekční dávka + anaerobní podmínky ve tkáni
- pomnožování klostridií v ráně: vliv cizích těles, nekróz ve tkáni, omezení krevního zásobování
- účinek toxinů na stěnu kapilár: rozsáhlý únik tekutin do tkání => edémy
- trombózy cév => zvýšení anaerobiózy ve tkáni => rozšiřování nekróz => další množení klostridií + produkce toxinů
- toxiny: závažné morfologické a funkční změny ve všech životně důležitých orgánech, intravazální hemolýza

infekce ran

- komplikace znečištěných poranění
- pyogenní procesy:
 - ve směsi s pyogenními mikroorganismy (stafylokoky apod.), => hnisání => intraabdominální a pelvické hnisavé procesy, abscesy, empyémy
 - nejsou přítomny známky lokálního nebo celkového působení toxinů
- celulitida (plynatá flegmóna)
 - nejsou postiženy svaly
 - podkoží, tkáň mezi svaly - epifasciální flegmóna
 - fascie - nekrotizující fasciitida
 - je napadena pouze tkáň, která je již odumřelá (poruchy výživy tkáně => ulcerace)
 - toxiny účinkují jen lokálně - lokální nekrózy, nešíří se do nepoškozené tkáně
 - v postižené tkáni mohou vznikat bublinky plynu (krepitace)
 - pomalý průběh, nevede k sepsi
 - při adekvátní léčbě dobrá prognóza

- klostridiová myonekróza (gangrena emphysematosa, plynatá sněť, maligní edém)
 - inkubace 4h - 3 dny
 - příznaky lokální
 - intenzivní, pronikavá bolest v ráně a jejím okolí (bývá větší, než by odpovídalo velikosti a charakteru rány)
 - krepitace: fermentace sacharidů ve tkáni => bublinky plynu => třaskání pod prsty při pohmatu na tkáň
 - rozvíjí se rozsáhlý tuhý edém
 - z rány vytéká řídká, serózně-hemoragická tekutina (obsahuje klostridia), později odporně zapáchající exsudát
 - kůže zpočátku nápadně bílá => žlutne => cyanóza => bronzové zbarvení
 - na kůži puchýře s černým obsahem a černá ložiska nekrózy
 - svaly: zvláštní šedobílé zbarvení (jsou kalné, jako uvařené)
 - zvyšování kapilární permeability => stoupá množství edémové tekutiny => nákaza se šíří do okolí
 - příznaky celkové
 - důsledek stále většího průniku toxinů do krevního oběhu - narušení funkce všech životně důležitých orgánů
 - horečka
 - poruchy srdeční činnosti
 - cyanóza a dušnost - edém plic + drobná tuková embolie (α toxin!)
 - masivní intravaskulární hemolýza => ikterus
 - oligurie, hemoglobinurie + hematurie (krevní výrony v ledvinách)
 - bilirubin v krvi i moči
 - příznaky při septické komplikaci
 - zvětšená slezina
 - septické metastázy => klouby, pleura, svaly, mozek (absces)
 - rozsáhlý únik tekutiny do tkání + hemolýza => infekční šok
 - smrt: selhání myokardu a ledvin (24 až 72 h od prvních příznaků!!!)

diagnostika:

- anamnéza, klinický obraz, mikrobiologické vyšetření
- infekce měkkých tkání - odebíráme excizi z rány, exsudát, popř. poškozenou tkáň
- u střevních postižení stolici; u enterotoxikóz i podezřelou potravinu
- mikroskopie: při invazivních infekcích - velké množství krátkých, zavalitých G+ tyčinek, spory ve tkáni přítomny nejsou
- kultivace
 - anaerobní podmínky (VF bujón, anaerobní KA, žloutkový agar)
 - krevní agar – široká zóna neúplné hemolýzy
 - agar s obsahem vaječného žloutku – toxin α svou fosfolipasovou aktivitou sráží vaječný lecithin - v okolí kolonie toxigenního kmene vzniká zóna světlé precipitace
 - čistá kultura: zahřátí naočkovaného VF bujónu (10 min / 80°C) => usmrcení vegetativních forem všech druhů => přežijí pouze spóry, nechají se vyklíčit
- antigenní specifitu toxinu prokážeme inhibicí této precipitace specifickým antiserem
- enterotoxin se prokazuje reverzní pasivní aglutinací v mikrotitrační destičce

terapie a prevence

- infekce měkkých tkání – viz výše
- enterotoxikóza – symptomatická léčba
- prevence založená na dodržování hygienických pravidel a vhodné manipulaci s potravinami

Další klostridia

Clostridium septicum

- pohyblivý, kultivačně nenáročný, roste na běžných půdách kde tvoří šedé kolonie s nepravidelnými okraji, někdy s plazivým růstem a s β -hemolýzou
- teplotní optimum 37-40°C
- malé množství kyslíku nepůsobí letálně
- v půdě, GIT zvířat a člověka
- často tvoří krátké řetízky, subterminální oválné spory rozšiřující buňku
- patří mezi nejčastější původce anaerobní myonekrózy, na rozvoji se podílí hlavně letální nekrotizující hemolytický toxin α
- edém postižených tkání, často s hemoragiemi, plyn přítomen v menším množství, schopnost vyvolat sepsi

Clostridium novyi

- striktně anaerobní grampozitivní tyčinky
- běžně se vyskytuje ve střevě zvířat
- centrálně nebo subterminálně uložené oválné spory
- dělí se na typ A a B, pro člověka má význam hlavně typ A, který je schopný vyvolat plynatou sněť - typický mohutný edém postižené tkáně, mnohem méně plynu než u infekce *Clostridium perfringens*
- na rozvoji infekce se podílí hlavně alfa toxin (dále např. oxygenlabilní hemolysin, lipasa, fosfolipasa C)

Clostridium histolyticum

- aerotolerantní, pohyblivé grampozitivní tyčinky
- silně proteolytické, ale neštěpí sacharidy
- spory mohutně vyklenují tyčinky
- způsobují myonekrózy, na rozvoji se podílí hlavně alfa toxin a řada proteas (např. beta toxin - kolagenasa)
- nekrotické měkké tkáně jsou rozbředlé bez obsahu plynů

Clostridium sordelii

- pohyblivé grampozitivní tyčinky
- drobné oválné spory pouze nepatrně vyklenují tyčinky
- štěpí proteiny i sacharidy, produkují ureasu
- na rozvoji myonekróz se podílí hlavně beta toxin, toxicita alfa toxinu je zanedbatelná

28a. Rod *Actinomyces*

Zástupci

- hlavně *Actinomyces israeli* – způsobuje aktinomykózu
- další druhy: *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*

Morfologie

- pleomorfní mikroorganismy tvořící větvená vlákna s tendencí k terminální fragmentaci na kokovité či kokobacilární útvary
- větvení ve tvaru Y nebo V, spleť vláken připomíná mycelium hub
- stěna aktinomycet obsahuje druhově specifický peptidoglykan a také mykolové kyseliny, což je přibližuje k mykobakteriím

Biochemie

- dovedou fermentovat glukózu – jejich růst proto lze ovlivnit přidáním cukrů do kult. média
- nutná kultivace za anaerobních podmínek a za přítomnosti CO₂
- růst je pomalý, kolonie se tvoří během 5 až 14 dnů

Patogenita

- obývají dutinu ústní a urogenitální trakt
- podezřívány z etiologické úlohy u parodontitidy a zubních granulomů
- aktinomykóza
 - průběh aktinomykózy je chronický, pomalý
 - tvoření abscesů a píštělí, z nichž může vytékat hustý hnis obsahující zrníčkové shluky mikrobů zvané *drúzy*;
 - podle lokalizace se rozlišuje několik forem aktinomykózy – cervikofaciální, thorakální, abdominální

Patogenita – Povýšil

- aktinomykóza je téměř vždy endogenní infekcí
- 1. cervikofaciální aktinomykóza
 - je nejčastější forma s příznivou prognózou.
 - začíná v dutině ústní především na dásních dolní čelisti. Nejprve se projevuje akutním hnisavým zánětem s výrazným otokem měkkých tkání a v submandibulární oblasti.
 - otok přetrvává, je nápadně tuhý, prostoupený mnohotnými abscesy, které se otvírají navenek ve formě píštělí.
 - proces může devastovat chrupavčitý skelet hrtanu, z horní čelisti se může propagovat do sinusů, orbity a lební dutiny
- 2. intrathorakální aktinomykóza
 - projevuje se především postižením plic a perikardu.
 - k infekci může dojít aspirací aktinomycet z ústní dutiny, hematogenním rozsevem nebo šířením per continuitatem z jiné formy aktinomykózy
 - Aktinomykóza plic má charakter chronické abscedující pneumonie, přičemž abscesy uložené v zánětlivě novotvořeném a jizvícím se vazivu se mohou pleurálními srůsty provalovat navenek. Jizevnatá fibróza vede ke vzniku bronchiektázií.
 - Aktinomykóza perikardu se vyznačuje srůsty mezi oběma listy perikardu s četnými abscesy, které průnikem do myokardu a srdečních dutin mohou vést k pyémii
- 3. abdominální aktinomykóza
 - vzniká propagací z hrudníku nebo vzácně jde o primární střevní infekci v apendixu, sigmoideu nebo rektu.
 - morfologicky je zastižen chronický hnisavý fibroproduktivní zánět, který vyústí ve srůsty sousedních břišních orgánů s mnohočetnými abscesy a píštělemi.

- tromboflebitida mezenterálních žil při střevní aktinomykóze vede k portální pyémii s mnohotnými abscesy a pseudotumorózními aktinomykomy v játrech
- 4. kožní aktinomykóza primární
 - morfologicky se jedná o chronický hnisavě produktivní zánětlivý proces s četnými abscesy a píštělemi šířící se do okolních tkání.
 - jizvení vede ke vzniku tuhých, nepřesně ohraničených útvarů prostoupených abscesy, které se označují jako aktinomykom.
 - v abscesech nacházíme hnis se žlutými zrnkami - tzv. drúzami, což jsou kolonie aktinomycet s kompaktním centrem a radiálním uspořádáním oxyfilních vláken kyjovitého tvaru na periferii

Terapie

- terapie je vleklá a svízelná
- penicilin (megadávky), při déletrvající léčbě i doxycylin, linkomycin, klindamycin
- léčba ATB žádá i chirurgický výkon v příslušné lokalizaci

Laboratorní průkaz

- výhradně přímý průkaz - mikroskopie, anaerobní kultivace + klinický obraz onemocnění

28b. Rod *Nocardia*

- **aerobní a G+ tyčinky**, příbuzné mykobakteriím (protože mají společnou přítomnost kyseliny meso-diaminopimelové a kyselin mykolových v buněčné stěně), morfologicky podobné aktinomycetám (také označované jako aerobní aktinomycety)
- zástupci: *Nocardia asteroides*
Nocardia brasiliensis (v tropických oblastech)
- původce ohraničených infekcí plic, mozku, kůže, oka a jiných orgánů

Morfologie

- základním tvarem je G+ vlákno jakoby složené z korálků, z nich se v pravých úhlech větví krátká mycelia
- (ta se po nějaké době rozpadají na kokoidní či tyčinkové elementy nebo krátká vlákna)

Kultivace

- rostou na běžných půdách za aerobních podmínek, při 37°C za 2-3 dny
- KA – sametové až jakoby „poprášené“, bílé, nažloutlé až naoranžovělé kolonie pevně linoucí k agaru, z jejich povrchu kolonie ční vláčenka vzdušného mycelia
- selektivní půda – půdy s parafinem, s aktivním uhlím pro legionelly

Biochemické vlastnosti

- katalasa pozitivní
- hydrolyza eskulinu a urey
- redukce nitrátů

Antigenní struktura

- proteinové i polysacharidové antigeny, z nichž některé jsou společné s mykobakteriemi

Patogenita

- potenciální patogeny - ke vzniku onemocnění dochází u lidí se sníženou obranyschopností (u onkologických pacientů, či pacientů s AIDS), faktory virulence nejsou přesně známy
- cord-faktor a mykolová kyselina (jako mykobakteria)
- plicní infekce
 - nejčastější forma nokardiózy
 - ojedinělé ložiska až miliární rozsev
 - kašel s expektorací hnisavého sputa, infiltráty v plicním parenchymu a pleurální výpotek
 - léze může penetrovat přes hrudní stěnu a destruovat žebra
- hematogenně se může dostat do mozku, kde vznikají solitární abscesy
- metastaticky bývají postiženy i ledviny, nebo jiné orgány
- kožní forma – může připomínat aktinomykózu

Epidemiologie

- hlavně v tropech a subtropích, infekce z exogenních zdrojů – většinou z půdy
- nebyl prokázán mezilidský přenos, ani přenos ze zvířete

Laboratorní průkaz

- sputum, bronchiální laváž; dále hnis, aspirát z léze, příp. hemokultury (u podezření na diseminaci)
- kultivace z likvoru nebývá úspěšná
- průkaz vždy přímý (mikroskopie, kultivace – 14dní)
- sérologický průkaz není běžný

Léčba (terapie)

- kotrimoxazol (lék volby), alternativou jsou tetracykliny
- u abscesů je nutné chirurgické řešení - drenáž

29. Rod *Mycobacterium*

Společné vlastnosti mykobakterií:

- nelze je obarvit běžným postupem dle Grama (dáno vysokým obsahem lipidů ve stěně)
- většina roste i na speciálních půdách velmi pomalu
- patogenní (původci tuberkulózy, lepry)
- bývají citlivé na jiný typ antimikrobiálních látek než ostatní bakterie
- podobnost s plísněmi ve smyslu pomalého růstu a vzhledu kolonií, ale jinak s nimi nemají nic společného

Morfologie:

- nepohyblivé, nesporulující, většinou štíhlé tyčinky
- nelze je obarvit podle Grama – kvůli vysokému obsahu lipidů ve stěně, zejména vosků obsahujících dlouhé, větvené řetězce mykolových kyselin
- Ziehlovo-Neelsenovo barvení: pro obarvení fuchsinem je potřeba je mořit fenolem, příp. je barvit za horka. Obarvené mykobakteria nelze odbarvit, ani směsí alkoholu a HCl = **acidorezistentní**
- stavba buněčné stěny:
 - složitá, v podstatě ale odpovídá G+ bakteriím
 - na vrstvu peptidoglykanu jsou postupně navázány polysacharidy a mykolové kyseliny
 - hydrofobní zevní vrstva obsahuje jednak lipidy a jednak polypeptidy stimulující buněčnou imunitu
 - extrakt těchto polypeptidů = **PPD** - nahradil Kochův tuberkulin a slouží ke zjišťování pozdní přecitlivělosti na mykobakteriální antigeny

Fyziologie a kultivace:

- aerobní, velmi dlouhá generační doba (hodiny až jeden den)
- kolonie se objeví až za několik týdnů, jsou často žlutavě pigmentované, některé s drsným povrchem
- většina roste na jednoduchých půdách s asparaginem, glycerolem, minerálními solemi a vejci nebo hovězím sérem (tekuté půdy); některé vyžadují další přídavky jako hemin nebo kyselinu pyrohroznovou
- jsou poměrně odolné k zevním vlivům, hlavně k vysychání a chemickým látkám

Patogenita:

- žijí v půdě a vodě jako saprofyty
- část se uplatňuje jako oportunitní patogeny zvířat a člověka

Rozdělení:

1. *Mycobacterium tuberculosis*
2. fotochromogeny (pigmentují jen na světle - *M. kansasii*)
3. skotochromogeny (rostou v barevných koloniích i potmě - *M. goodii*)
4. nonchromogeny (nevytvoří výrazně barevné kolonie - *M. avium*)
5. rychle rostoucí mykobakteria (vyrostou během několika dnů - *M. fortuitum-chelonae*)

Mycobacterium tuberculosis

- patří k nejdůležitějším patogenům člověka
- nakažena je zhruba 1/3 lidské populace, ročně na tuberkulózu umírají až 3 miliony osob
- bakterii objevil v roce 1892 Robert Koch, běžně se označuje jako BK (bacil Kochův)

Morfologie

- velmi štíhlé dokonale acidorezistentní tyčinky, někdy lehce zahnuté nebo nepravidelně probarvené
- v klinickém materiálu: jednotlivě nebo ve shlucích několika paralelně uspořádaných tyčinek
- v kultuře: hadovité útvary připomínající spletené provazce (tomuto jevu se říká cording, typické pro virulentní kmeny)
- barvení dle Ziehla-Neelsena - barvení karbolfuchsinem za horka, použití kyselého alkoholu a dobarvení methylenovou modří nebo malachitovou zelení → růžové až červené tyčinky na modrém/zeleném pozadí

Kultivace

- generační doba dlouhá asi 18-24 hod → dlouhodobá kultivace
- půda Löwensteinova-Jensenova - kolonie během 3-6 týdnů, jsou nažloutlé nebo krémové, drsné s nepravidelným okrajem a drolivou konzistencí (eugonický růst)
- v tekutých půdách tvoří blanku, v Šulově půdě (s glycerinem a hovězím sérem) bílý krupicovitý sediment

Odolnost na zevní vlivy

- vysoce odolné vůči vyschnutí (v prachu až 10 dní, ve vyschlém sputu až 8 měs.)
- desinfekce - účinné jsou deriváty fenolu a aldehydy
- velmi citlivé k UV záření; ale dáváme přednost autoklávování
- detergenty neúčinkují

Patogeneze

- netvoří žádné toxiny
- cord factor - faktor virulence – glykolipid, odpovídá za růst virulentních kmenů v hadovitých provazcích
- obecně je virulence dána schopností přežít uvnitř makrofágů neimunního jedince
 - mykobakteria potlačují snižování pH ve fagosomech a následné splývání s lyzosomy
 - díky makrofágům se přenáší do mizních uzlin a z nich do krve a dalších orgánů
- za poškození organismu a vznik příznaků je odpovědná reakce makroorganismu probíhající jako typická reakce pozdní přecitlivělosti na mykobakteriální antigeny
- vstupní brána infekce: plicní alveoly, vzácně GIT, kůže
- mykobakteria pohlcena plicními makrofágy, které z části hynou zčásti zanášejí bakterie do hilových lymfatických uzlin
- na počátku infekce v neimunním organismu mykobakteria v makrofázích přežívají a množí se, protože brání dozrávání fagosomů a jejich spojení s lyzosomy (intracelul. množení potlačuje vit. D)
- část mikobakterií tedy přece jen uhynie, jejich bílkoviny jsou rozštěpeny a antigenní polypeptidy jsou na MHC II. vystaveny na povrchu makrofága
- ocitne-li se v blízkosti specifická T-buňka, rozezná obě složky (MHC II. a antigen), aktivuje se a zahájí tím imunitní reakci → velmi se zvýší počet specificky reagujících T-buněk
- Th1 po styku s antigeny uvolňuje IL-2, IL-12, INF γ (aktivují makrofágy) a chemokiny (přitahují monocyty a lymfocyty)

- z monocytů vznikají makrofágy, které se po aktivaci mění na epiteloidní buňky nebo také splývají a tvoří obrovské mnohojaderné Langhansovy buňky → z ložiska se stává granulom (střed může nekrotizovat a nabýt sýrovitého vzhledu = kaseifikace)
- aktivované makrofágy zabíjejí pohlčená mykobakteria, ale přitom ničí i okolní tkáň
- cytotoxické T buňky (CD8+) jsou schopny rozpoznat a svými perforiny zničit infikovaný fagocyt a v něm se množící mykobakterie zabít enzymem granulolyzinem
- díky buněčné imunitě se množení mykobakterií za několik týdnů výrazně zpomalí
- primární komplex = primární ložisko + odpovídající infikovaná uzlina → z něj se infekce generalizuje, a vznikají ložiska v orgánech
- malá ložiska - prostupná pro makrofágy a všechny bakterie v nich mohou být zlikvidovány
- velká ložiska - opouzdří se vrstvou fibroblastů a fibrinu, léze se postupně hojí, ohraničuje se vazivem a později kalcifikuje. Část mykobakterií ale zůstává naživu a proces v ložisku může kdykoliv začít progredovat (na meningách, v kloubech, kostech, ledvinách, kůži..)
- pronikají-li mykobakterie do oběhu, vznikají mnohočetné granulomy v orgánech = miliární rozsev
- postprimární tuberkulóza
 - vzniká po letech reaktivací ložiska / exogenní reinfekcí (při podlomení imunity - stáří, drogy, alkohol, HIV)
 - téměř vždy v plicních hrotech
 - výsledkem je rozsáhlý tuberkulom, který uvnitř kolikvuje a může se vyprázdnit do bronchu → vzniká dutina, kde se dobře množí mykobakteria, uvolňují se do sputa a šíří se do jiných oblastí plic, do laryngu, po spolknutí do střev a při kašli se přenáší na nového hostitele (= otevřená tbc)

Patogenita

- primární tuberkulóza – u naprosté většiny postiženy plíce, bývá asymptomatická
- meningitis basilaris - tuberkulózní meningitida, probíhající obvykle na bázi lebni
- scrofulosis - kaseózní lymfadenitida krčních uzlin
- postprimární tuberkulóza – téměř výhradně onemocnění plic. Kašel s produkcí sputa, hemoptýza, zvýšená teplota, noční poty, hubnutí
- lupus vulgaris - postprimární kožní tbc

Epidemiologie

- zdrojem je člověk s otevřenou tuberkulózou
- přenos se děje vdechnutím infekčního aerosolu při blízkém styku s nemocným
- pokles incidence se zastavil v roce 2000, incidence momentálně vzrůstá - u bezdomovců, drogově závislých, u osob v nápravných zařízeních, u žadatelů o azyl

Terapie

- dříve terapeuticky vyvolané pneumothoraxy, příp. klidová léčba v sanatoriích
- v současnosti kontrolované podávání kombinací několika antituberkulotik:
 - iniciační fáze (2 měs.) - co nejvíce snížit počet mykobakterií
 - pokračovací fáze (6-8 měs.) - ložisko se snažíme postupně sterilizovat, intermitentní podávání léků
- základní antituberkulotika: isoniazid (H), rifampicin (R), pyrazinamid (Z), streptomycin (S), ethambutol (E)
- léčba: 2 měsíce čtyřkombinace HRZE nebo HRZS poté dvojkombinace HR nebo HE
- kombinovaná léčba je nutná, aby se zabránilo vzniku rezistentních mutant
- MDR (multidrug-resistant) = kmeny necitlivé alespoň na H a R, riziko selhání léčby!
- ve zvláštních případech - fluorochinolony, makrolidy, aminoglykosidy,..

Prevence

- včasné aktivní vyhledávání a účinná léčba v ohrožených skupinách, zábrana přelidnění
- vakcinace proti tuberkulóze (tzv. kalmetizace):
 - používá se **BCG-vakcína** (bacille Calmette-Guérin)
 - pochází z *M.bovis* oslabeného mnohaletým pasážováním in vitro
 - očkuje se do kůže novorozenců
 - v 11 letech se přeočkovává, ale pouze u negativního tuberkulinového kožního testu
 - tuberkulinový test (test dle Mantouxové, čti: mantú) - používá se PPD, vstříkne se přísně intradermálně. Děti, které si zachovaly imunitu po očkování a jedinci, kteří se setkali s infekcí, zůstávají přecitlivělí (v místě podání tuberkulinu se u nich vyvine zánětlivá reakce vrcholící za 48 až 72 hod, hodnotí se indurace, nikoli erytém; pozitivní > 6 mm)

Laboratorní průkaz

- základem diagnostiky je mikroskopie a kultivace, doplněné o rychlý průkaz specifických sekvencí nukleových kyselin
- materiál:
 - plicní forma: sputum zasílané 3 dny za sebou, nebo bronchoalveolární laváž a bronchiální výplach
 - jiná forma: hnis, likvor, bioptické vzorky, moč, u diseminovaných infekcí i krev
- infekční dávka: < 10 bakterií = hrozí profesionální infekce
- mikroskopické vyšetření:
 - barvení dle Ziehl-Neelsena (vyšetří se 50 zorných polí) nebo fluorescenční
 - citlivost mikroskopie je 100x nižší než kultivace
 - mikroskopicky pozitivní pacient vylučuje 10^4 bakterií na 1 ml sputa
- kultivace:
 - nespecifické mikroflóry se zbavíme dekontaminačními postupy, které využívají acidorezistenci mykobakterií, nejčastěji moření vzorku louhem sodným + následná neutralizace HCl
 - pevné půdy: vaječné (Löwensteinova-Jensenova, Ogawova)
 - tekuté půdy (Šulova, Baničova)
 - každý vzorek se očkuje na 3-4 různé půdy, odečítání za 1, 3, 6 a 9 týdnů
 - používají se i urychlené kultivační postupy založené na průkazu metabolických produktů mykobakterií během jejich růstu v tekutých půdách (např. detekce změny barvy terčíku na dně kultivační nádoby vlivem tvorby CO₂ už za 10-14 dní)
- pokus na zvířeti (už se nepoužívá)
 - byl indikován, jde-li o materiál obtížně získatelný - likvor, hnis, bioptické vzorky
 - vzorek se očkuje morčeti pod kůži → po 6 týdnech se zvíře usmrtí v případě zduřelých uzlin → kultivace a histologie
- identifikace izolovaného kmene:
 - u *M.tuberculosis* charakteristický růst a biochemické testy (schopnost tvořit niacin, redukovat nitráty)
- testování citlivosti:
 - na základní antituberkulotika (popř. i na další)
 - používá se proporční test podle Canettiho
 - srovnává se počet kolonií vyrostlých na půdě s kritickou koncentrací léku s počtem kolonií na půdě kontrolní → je-li jejich podíl > 1%, hodnotíme kmen jako rezistentní)
- PCR – překvapivě nižší citlivost a falešně pozitivní nálezy
- nepřímý průkaz – existují ELISA soupravy, ale tyto testy nejsou použitelné k diagnóze

Mycobacterium bovis

Biologické vlastnosti

- genom velmi shodný s *Mycobacterium tuberculosis*
- vyznačuje se tzv. dysgonickým růstem - vytváří **drobné, lesklé, ploché a bezbarvé kolonie**
- nesnáší přítomnost glycerinu
- vyžaduje spíše mikroaerofilní prostředí a na půdě Löwensteinově-Jensenově přidavek pyrohroznanu sodného
- lépe roste na půdě Ogawově s glutamátem
- pasterizace ho spolehlivě ničí

Patogenita

- patogenní pro skot, prasata, divoce žijící zvířata, králíky, morčata, telata a nepatogenní pro drůbež
- dříve přenos nepasterizovaným mlékem – vyvolával spíš TBC krčních a mesenterálních lymf uzlin než plicní formu
- zduřelé krční uzliny se provalovaly píštělemi navenek (scrofuloderma)

Mycobacterium bovis BCG (bacille Calmette-Guérin)

- mykobakterium užívané k očkování proti tuberkulóze (BCG-vakcína)
- kmen byl izolován z vemene tuberkulózní krávy Edmondem Nocardem
- od roku 1906 ho Léon Calmette a Camille Guérin během 13 let podrobili 231 pasážím na bramborové půdě s glycerinem a žlučí – to virulenci natolik oslabilo, že ho bylo možné použít jako očkovací látku
- vpravení vakcíny do kůže vyvolá induraci až vřídek (v podstatě kaseózní granulom), vzácně absces, běžná je regionální lymfadenitida v podpaží
- BCG vakcína neochrání před infekcí, ale potlačí diseminaci a vznik onemocnění

Mycobacterium leprae

Biologické vlastnosti

- původce malomocenství = lepry
- dosud se ho nepodařilo vypěstovat in vitro, v pokusech se množí na ouškách a tlapkách normálních myší a v tzv. nahých myších
- optimální teplota je 30°C, generační doba 12-14 dnů

Patogeneze

- postihuje periferní nervy
- pomocí glykolipidu PGL-1 se váže na povrch Schwannových buněk, proniká do nich a po léta je kolonizuje. Protože je nedovede invadovat rovnou, nejprve je přinutí k dediferenciaci, což má za následek demyelinizaci a poškození nervu
- pokud se v rozvine buněčná imunita, v napadením nervu vznikne granulomatózní zánět a zhorší jeho postižení
- není-li ale buněčná imunita dostatečná, infekce se generalizuje
- mykobakteria se pak množí v chladnějších tkáních (kůže, podkoží obličeje, nos, kosti prstů)

Patogenita

- v závislosti na stupni imunitní reakce se klinicky rozeznává:
- **tuberkuloidní lepra**
 - provázena výraznou celulární imunitou
 - na kůži je jen několik necitlivých depigmentovaných nebo začervenalých skvrn
 - hmatat lze granulomatózním zánětem zduřelé nefunkční periferní nervy - hlavně senzorické
 - postižená místa jsou náchylná k poranění a to vede k tvorbě nehojících se vředů.
 - kůže i svalstvo atrofují.
 - postupně se rozvíjejí kontraktury, paralýza a nastávají autoamputace akrálních částí těla - např. prstů a při progresi i dalších částí aker.
 - histologicky: v tkáni je lymfocytární infiltrát a typické granulomy, mikrob se nedá prokázat, infekciozita nemocných je nízká.
- **lepromatosní lepra**
 - rozvíjí při nedostatečné buněčné imunitě
 - granulomy se netvoří, ve tkáních jsou nakupeny makrofágy s nápadně světlou plazmou, která obsahuje hojná mykobakteria (multibacilární forma). Tyto makrofágy se označují jako Virchowovy buňky.
 - makroskopicky se na kůži vytvářejí makuly, plaký, papuly a posléze uzly, které mohou splývat. Tento proces deformuje tkáň - lokty, zápěstí, kolena, obličej, uši. Obličej postupně hrubne k nepoznání, což se označuje jako lví tvář - *facies leontina*.
 - postižení víček vede ke slepotě, prstů k jejich ztrátě
 - v pokročilých fázích bývají infiltrovány lymfatické uzliny, posléze slezina a játra i jiné orgány.
 - histologicky patrný zánětlivý infiltrát z pěnových buněk plných mykobakterií

Epidemiologie

- předpokládalo se, že jediným zdrojem infekce je nemocný lepromatosní formou, který vylučuje mykobakteria nosním sekretem a že k nákaze dochází pouze respirační cestou a ohroženy jsou jen osoby v blízkém kontaktu, a to při špatných sociálně-ekonomických podmínkách
- dnes je jasné že se lepra dá přenést i poraněním a vyskytuje se i u divokých zvířat (opice)
- dle výsledků výzkumu epidemie v Norsku v 19. století je pravděpodobné, že mykobakteria by mohly přežívat ve vnějším prostředí (norská rašeliniště)

Léčba

- rifampicin, dapson, klofazimin, minocyklin, ofloxacin, klarithromycin
- běžně se užívají první tři

Prevence

- vyšetřování kontaktů, sledování nemocných, a především zlepšování životních podmínek
- ochranný účinek má i očkování BCG-vakcínou

Laboratorní průkaz

- mikroskopie
 - materiál: seškraby z kožních řezů z podezřelých ložisek a stěry z nosní sliznice
 - barvení dle Ziehl-Neelsena
 - nález acidorezistentních tyčinek, hodnotí se kvantitativně.
 - zvlášť se pátrá po shlučích tyčinek v makrofázích (tzv. *globi*)
- kultivovat in vitro nelze
- lze se pokusit o izolaci na zvířeti, stanovení protilátek ani PCR nejsou zatím spolehlivé

Tzv. atypická mykobakteria

- různé mykobakterie žijící ve vodě, půdě (jako saprofyté)
- za určitých podmínek mohou u člověka vyvolat onemocnění = mykobakteriózy
- jelikož se první druhy těchto podmíněně patogenních mykobakterií svými vlastnostmi lišily od druhů klasických, byla označena za „atypická“
- původci mykobakterióz jsou rezistentní na řadu antituberkulotik

Klinicky významné druhy

Mycobacterium avium a *Mycobacterium intracellulare* (komplex MAI):

- běžnými testy nejsou dobře rozlišitelné, jejich patogenita je stejná
- rezistentní na většinu antituberkulotik, jsou přirozeně patogenní pro ptáky a prasata
- u člověka vyvolávají lymfadenitidu krčních uzlin i plicní procesy podobné TBC
- v souvislosti AIDS působí závažná diseminovaná onemocnění charakterizovaná přítomností velkého počtu mykobakterií ve tkáních (obdobné jako u lepromatosní formy lepry)

Mycobacterium kansasii:

- poměrně častý výskyt, v oblastech s důlním a hutním průmyslem
- citlivý na většinu antituberkulotik
- chronická plicní onemocnění podobná TBC, vzácněji mimoplicní a diseminované procesy

Mycobacterium xenopi:

- často ve vodovodních systémech, zvláště s teplou vodou
- u predisponovaných může vyvolávat plicní infekce

Mycobacterium scrofulaceum:

- příbuzné komplexu MAI
- izolováno ze zanícených krčních uzlin u dětí, jímž se prořezávají zuby, vzácně ze sputa

Mycobacterium ulcerans:

- burulský vřed
- u imunokompromitovaných třetí nejčastější mykobakteriální onemocnění, po TBC a lepre

další

- *M. szulgai* a *M. malmoeansae* - plicní nemoci
- *M. marinum* - kožní léze, v ČR při manipulaci s akvarijními rybami

30. Rod *Treponema*

- **gramnegativní anaerobní** nebo **mikroaerofilní** bakterie
- **spirálovité** mikroorganismy, s pravidelnými závity
- **pohyblivé**, rotují a smršťují se
- špatně se barví, jsou dobře viditelné po **stříbření v zástinu**
- pro člověka jsou patogenní:
 - *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (syfilis),
 - *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* (endemická syfilis),
 - *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* (frambézie)
 - *Treponema carateum* (pinta)
- patogenní treponemata jsou mikroaerofilní a nelze je kultivovat na umělých médiích ani tkáňových kulturách – zásadní omezení přímé diagnostiky
- nepatogenní treponemata se vyskytují na sliznici dutiny ústní a genitálu

Treponema pallidum

Morfologie a antigeny

- odlišné uspořádání zevní membrány od jiných gramnegativních mikrobů
- zevní membrána je chudá na proteiny, hladká a málo antigenní - představuje ji fosfolipidová dvojvrstva s nedostatkem integrálních membránových proteinů
- hlavní membránové imunogeny jsou **lipoproteiny zakotvené až ve vnitřní fosfolipidové vrstvě**
- dokud je zevní membrána intaktní, jsou antigeny pod zevní membránou skryté a pro protilátky nedosažitelné
- zvláště významné pro humorální odpověď jsou polypeptidy

Syfilis (lues)

- jedna z nejvýznamnějších **pohlavně přenosných** infekcí
- kromě pohlavního styku se může **přenést z matky na dítě** (přes placentu)
- **vzácně nepohlavně** (kontaktem s kožními lézemi, případně kontaktem s krví nebo tělním tekutinami)
- probíhá v jednotlivých stádiích, které se liší klinickými projevy, možnostmi přenosu a možnostmi léčby

1. Časná syfilis

a) primární syfilis

- inkubační doba 10 až 90 dní, obvykle 3 týdny
- typickým projevem je **ulcus durum** (tvrdý vřed) – vytváří se v místě vstupu infekce (nejčastěji na genitálu). Spodina i okraje ulcerace mají tuhou konzistenci
- **zvětšené** a většinou nebolestivé **regionální lymfatické uzliny** (=indolentní bubo)
- léze se spontánně zhojí během 1 až 5 týdnů
- protilátky (nejprve IgM, později IgG) se objevují za 1 až 4 týdny po vzniku vředu

b) sekundární syfilis

- nastupuje za 1 až 5 týdnů po zhojení primární léze
- dochází k diseminaci mikrobů, mohou napadat všechny orgány i všechny tělní tekutiny
- rozvíjejí se **nespecifické symptomy** jako horečka, bolest hlavy, bolest v krku, anorexie, apod.
- charakteristické příznaky: kožní a slizniční léze: **generalizovaný rash** a **condylomata lata**
- **generalizovaný rash**: na kůži vzniká typický makulopapulární exantém, typicky na trupu a proximálních částech končetin
- **condylomata lata**: léze na sliznicích, perineu nebo kůži skrota; mají rysy plochých vyvýšených papulí až květákovitých vegetací. Jsou vysoce infekční.
- v lymfatických uzlinách dochází ke generalizované hyperplastické lymfadenopatii, která může imitovat i maligní lymfom. Histologické vyšetření však tuto možnost vyloučí a navíc lze prokázat četné spirochéty v lymfatické tkáni.
- někdy se rozvinou i známky nespecifické meningitidy, neboť měkké pleny jsou často tímto mikroorganismem rovněž osídleny.
- projevy se spontánně zhojí během 2 až 6 týdnů
- pokud pacient není léčen, mohou se během prvních 4 let objevit relapsy těchto příznaků
- protilátková odpověď je velmi zřetelná, všechny serologické reakce jsou pozitivní
- cirkulující imunokomplexy (IgG + složka komplementu C3) se mohou ukládat v ledvinách a vést k jejich poškození (až 80% případů)

c) časná latentní syfilis

- během prvního roku po překonání sekundární fáze je infekce označována jako časná latentní
- je **asymptomatická**, ale mohou se objevovat relapsy sekundárního stádia
- sérologické reakce jsou stále pozitivní, časem se snižuje reaktivita v netreponemových testech
- nejsou přítomny infekční léze, ale může dojít k přenosu z matky na plod (*pravděpodobnost přenosu s časem klesá*)

2. Pozdní syfilis

a) latentní syfilis

- infekce starší než 1 rok od počátečních příznaků
- nepředstavuje epidemiologické riziko, není infekční
- kdykoliv během ní se mohou rozvinout pozdní příznaky nebo může být přenesena z matky na plod

b) terciární syfilis

- u většiny případů se symptomy objeví za 10 až 20 let od počátečních příznaků
- častěji se příznaky objevují u osob infikovaných zároveň HIV
- **gummata**: laločnaté útvary pružné konzistence, léze připomínající tuberkulózní granulomy, mohou dosáhnout až velikost pěsti. Jsou lokalizovány v kůži, kostech, sliznicích, orgánech, svalech.. Jsou výrazem přecitlivělosti na některé antigeny treponemat.
- **kardiovaskulární syfilis**: v proximální aortě vzniká endarteritis (může postihovat i odstupy koronárních artérií a vést k syfilitické angině pectoris), degradace intimy a rozvoj aterosklerotických plátů; může vést k aneurysmatu
- **neurosyfilis**: může nabývat několika forem:
 - *tabes dorsalis* – postižení zadních provazců míšních. Projevuje se ztrátou hluboké citlivosti, nemocní mají poškozený polohocit, chodí nejistě nebo se vyznačují tzv. skákavou chůzí a patologicky našlapují

- *luetická encefalitida* – klinicky se projevující jako progresivní paralýza. Jde o chronicky probíhající meningoencefalitidu, postihuje zejm. frontální a prefrontální kůru. Vede k zániku neuronů a k axonální degeneraci. Rozvíjejí se třesy končetin, poruchy paměti a změny osobnosti – pacienti jsou postiženi bludnými představami, megalomanií, končí ve stavu demence.

3. Vrozená syfilis

- vzhledem k hematogennímu vstupu **chybí primární stádium**
- treponemata jsou téměř ve všech tkáních plodu, může dojít k potratu
- živě narozené plody umírají po několika dnech či týdnech s těžkými zánětlivými změnami vnitřních orgánů
- klasickým projevem kongenitální syfilidy je pneumonia alba, kdy intersticiem plicních alveolů je enormně rozšířené zmnoženým vazivem.
- masivní fibrotizace v játrech je charakteristická pro tzv. pazourkovitá játra.
- podobné fibrózní změny lze někdy nalézt i v pankreatu.
- v kostech se vyskytují změny označované jako osteochondritis syphilitica (vede k omezení růstu kostí do délky). Podobné změny se vyskytují v oblasti periostu – periostitis ossificans,
- infikované dítě může být po porodu zcela bez potíží
- **pozdní kongenitální syfilis** (syphilis congenita tarda) se rozvíjí u přežívajících plodů s normálním dospíváním, avšak s těžkými malformacemi, které tvoří tzv. Hutchinsonovu triádu:
 - vývoj zubů soudkovitého tvaru
 - zánět rohovky vedoucí k slepotě
 - zánět vnitřního ucha vedoucí k hluchotě
- u některých jedinců bývá sedlovitý nos a tibie šavlovitého tvaru.

Léčba

- základem léčby je podávání penicilinu G; také cefalosporiny III. gen
- alternativou jsou makrolidy nebo doxycyklin
- neurosyfilis lze léčit pouze penicilinem

Epidemiologie a prevence

- kvůli nebezpečí přenosu z matky na plod nebo přenosu krví je syfilis aktivně vyhledávaná mezi těhotnými a dárci krve
- vakcína neexistuje, jedinou ochranou je dodržování zásad bezpečného sexu
- epidemiologická situace se celosvětově zhoršuje – prostituce, užívání drog

Laboratorní diagnostika

a) metody přímého průkazu

- *T. pallidum* nelze kultivovat na umělých kultivačních půdách, množí se pouze v tkáni varlat králíků
- mikroskopie v zástinu (pozorování pohybu živých treponem), imunofluorescence, PCR, stříbření (ve fixovaných preparátech), izolace na králíčích varlatech
- prokazuje se z exsudátu ze spodiny ulcus durum nebo z kožních lézí u sekundární syfilis

b) metody nepřímého průkazu

- rozhodujícím nástrojem pro diagnostiku syfilis je sérologie (*v latentní fázi jediná možnost*)
- humorální imunitní odpověď lze detekovat nejdříve ve druhém týdnu infekce, kdy se objevují protilátky IgM. Během dalších dvou týdnů jsou následovány tvorbou IgG, které obvykle dosahují vyšších hladin než IgM
- záchyt IgM má význam při podezření na vrozenou lues, protože znamená nález plodu vlastních, nikoliv pouhých transplacentárně přenesených protilátek
- sérologické reakce lze podle povahy použitého antigenu rozlišit na dvě skupiny:
 - treponemové (specifické) – je použit přímo antigen *T. pallidum*
 - netreponemové (nespecifické) – používá se kardiolipin, fosfolipid tvořící součást bun. membrán

Reakce netreponemové

- jejich podstatou je vazba pacientových protilátek na antigen **kardiolipin**
- typy reakcí:
 - precipitace – zkumavková
 - aglutinace na nosičích – na uhlíkových zrnkách
 - KFR – BWR (Bordett Wassermannova reakce)
- pozitivním výsledkem jsou **vyvločkové shluky** protilátek s kardiolipinem
- kardiolipin se uvolňuje z tkání pacienta při syfilitické destrukci, jako haptenu se naváže na treponemata a vyvolá tak vznik protilátek reagujících v testu
- předpokládá se, že treponemata přispívají i tvorbou vlastního kardiolipinu
- rychlá, jednoduchá a levná reakce, skvělá pro screeningu
- test může být pozitivní relativně časně, již asi 2 týdny po vzniku tvrdého vředu
- protože jde o reakci s nespecifickým antigenem, bývá relativně často falešně pozitivní, musí se vždy (i v rámci screeningu) doplnit o reakci treponemovou. Příčinou falešné positivity může být jiné infekční onemocnění (hepatitida, tuberkulóza, mononukleóza, malárie), autoimunitní choroba, nádorové onemocnění nebo těhotenství
- falešná negativita - terciární stádium

Reakce treponemové

- **TPHA** (*T. pallidum* hemagglutination):
 - protilátky reagují s krútkými erytrocyty, které jsou potaženy treponemovým antigenem
 - jednoduchý a vysoce citlivý test, používá se jako součást screeningu
- **FTA-ABS** (fluorescent treponemal antibody – absorbed):
 - imunofluorescenční reakce
 - méně specifická než TPHA, ale může být pozitivní už v době, kdy je TPHA ještě negativní
 - hodnocení je subjektivní a vyžaduje určitou zkušenost hodnotícího
- **ELISA**:
 - stanovení IgG, IgM, nebo celkových protilátek (IgM + IgG)
 - nevylučuje zkřížené reakce
- **Western-blot**:
 - umožňuje odlišit zkříženě reagující protilátky
 - výhodou je vysoká citlivost umožňující zachytit nízké hladiny protilátek (např. v samém začátku infekce) a vysoká specifita

Ostatní patogenní treponemy

T. pertenue - onemocnění frambesie

- tropická treponematóza
- objevuje se v nejchudších oblastech Afriky, Asie a Jižní Ameriky
- přenáší se nepohlavním kontaktem z osoby na osobu, možný přenos i mouchami
- onemocnění ve 3 stádiích s ulcerativními změnami na kůži
- způsobuje hluboké rány, které mají za následek těžké deformace kůže, měkkých tkání, kostí a chrupavek
- terapie: penicilin

T. carateum – onemocnění pinta

- chronické onemocnění kůže
- přenos mezilidským kontaktem
- výskyt: střední a jižní Amerika
- terapie: penicilin

T. endemicum - bejel

- endemická syfilis
- Afrika, Asie, Austrálie
- přenos kontaminovanými předměty
- projevy: léze na ústní sliznici, následně vznik gumat v nosohltanu, kostech a kůži

31. Rod *Leptospira*

- patří mezi **spirochety** - bakterie spirálovitého tvaru, **aktivně pohyblivé**
- jemné pravidelné závit, na koncích jsou háčkovitě zahnuté
- tvoří klidová stadia, proto při vyschnutí substrátu hynou
- **špatně se barví**, mikroskopicky je můžeme pozorovat v zástinu nebo po imunofluorescenci
- dělí se na základě genetické analýzy na 17 genomospecies
- podle tradičního dělení se rozlišují druhy dva:
 - nepatogenní *L. biflexa*
 - patogenní *L. interrogans*

Biologické vlastnosti

- **kultivace** jen ve **speciálních tekutých médiích** obohacených např. králičím sérem, **1 - 2 týdny**
- rostou nejlépe při pokojové teplotě
- jsou **obligátně aerobní**
- jako zdroj energie využívají mastné kyseliny
- katalasa a oxidasa pozitivní; ale biochemie v diagnostice nemá velký význam
- **poměrně odolné**, ve vlhkém zevním prostředí přežívají i několik měsíců

Patogenita

- původci antropozoonózy **leptospirózy**
- v ČR nejčastěji způsobené sérotypy: *L. grippotyphosa* (nejčastější), *L. icterohaemorrhagiae*, *L. copenhageni*, *L. pomona*, *L. sejroe*, *L. bratislava*

Patogeneze

- patogeneze nebyla dosud uspokojivě objasněna, uplatňuje se kombinace různých faktorů patogenity
- inkubační doba 1 - 2 týdny, poté se objevují rozmanité příznaky - od lehkého onemocnění připomínajícího chřipku až po závažný klinický obraz zahrnující meningitidu, ikterus, renální selhání, krvácivé projevy a šok
- pro onemocnění je charakteristická vaskulitida (zánět cévní stěny), poškození endotelu, vznik zánětlivých infiltrátů
- nejvíce postiženy jsou ledviny, játra, srdce a plic
- z klinického hlediska se rozlišuje ikterická a anikterická forma onemocnění
- **Ikterická forma – Weilova nemoc**
 - původcem je *Leptospira icterohaemorrhagiae*
 - vzácnější forma, těžší průběh
 - mezi příznaky patří ikterus, renální selhávání, krvácivé projevy, někdy i hemoragická pneumonie
 - mortalita kolem 10%
 - pacienti, kteří se uzdraví, nemají poškozená játra ani ledviny, funkce těchto orgánů se upraví ad integrum

- **Anikterická forma – Blat'ácká horečka (polní, žňová)**
 - původcem je *Leptospira grippotyphosa*
 - častější forma, lehčí průběh
 - většinou probíhá jako necharakteristické horečnaté onemocnění, průběh může být i mnohem závažnější - jako serózní meningitida až meningoencefalitida (která může být považována za virovou)
 - známky poškození jater a ledvin

Léčba

- závisí na závažnosti onemocnění
- **lehký průběh** - symptomaticky (případně perorálním podáváním antibiotik)
- **těžší průběh** – vyžaduje podávání antibiotik intravenózně
- **ATB: penicilin, amoxicilin nebo doxycyklin**

Epidemiologie

- leptospiróza je jedna z celosvětově nejrozšířenějších zoonóz
- člověk se nakazí většinou **močí infikovaného zvířete** po kontaktu s **bahnem, vlhkou půdou nebo vodou**
- infekce vstupuje do organismu **poraněnou kůží či sliznicemi** (i neporušenými - typicky spojivkou), nebo **požitím kontaminovaných potravin**
- diagnózu onemocnění podporují anamnestické údaje jako pití vody ze studánky, pobyt v přírodě (koupání v přírodě, rybaření), kontakt se zvířaty, práce na polích
- vyskytuje se hlavně v létě a na podzim
- nebezpečí leptospirózy stoupá při přírodních katastrofách, jako jsou záplavy
- vakcíny pro člověka nejsou, **lze očkovat domácí zvířata**
- onemocnění podléhá povinnému hlášení

Laboratorní průkaz

- diagnostika: **anamnestické údaje** (pití vody ze studánek, pobyt v přírodě) + **průkaz protilátek**
- **přímý průkaz:**
 - v prvních 10 dnech infekce přímý průkaz **z krve, moči nebo likvoru**; poté pouze z moči (až 3 měsíce)
 - mikroskopie - málo citlivá, v diagnostice se neuplatňuje
 - **kultivace** - metoda volby; kultivuje se 1 až 2 týdny v tekutém médiu (např. Korthoffově médiu), z hemokultur vyrostou většinou do 14 dnů
 - protože koncentrace leptospir v klinických vzorcích bývá nízká, je vhodné materiál odebrat opakovaně
 - PCR se zatím rutinně neprovádí
- **průkaz protilátek:** provádí se od 1. týdne infekce
- standardní metodou je **mikroskopický aglutinační test (MAT)**
 - jako antigeny slouží živé kmeny našich nejčastějších leptospir
 - inkubují se s naředěným vyšetřovaným sérem v jamkách sérologické destičky
 - výsledek se hodnotí mikroskopicky v zástinu, při přítomnosti protilátek dojde ke shlukování jinak volných leptospir
 - MAT je vysoce citlivá reakce (jiné metody – KFR, ELISA její citlivosti nedosahují)
 - provádí se jen ve specializovaných pracovištích (protože vyžaduje uchovávat živé kmeny)
- musí se prokázat alespoň **čtyřnásobný vzestup titru** mezi akutním a rekonvalescentním vzorkem
- reakci MAT lze doplnit **imunoenzymatickým průkazem** akutních protilátek IgM

32. Rod *Borrelia*

- **gramnegativní** bakterie, řadí se mezi **spirochety**
- spirálovitý tvar, nepravidelné závity
- **aktivní pohyb**, dobře pozorovatelný v zástinovém mikroskopu
- rotace a posun bakterií je významným faktorem patogenity
- z klinicko-patologického hlediska se dělí na:
 - **původce lymeské boreliózy** (*B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*)
 - **původce návratných horeček** (*B. recurrentis*, *B. hermsii*)
 - mimo dělení stojí ***Borrelia vincenti*** (podílí se na ulceracích v orofaciální oblasti)
- v epidemiologii se uplatňuje **přenos** borrelií **členovci**, u nás hlavně klíšťaty. Klíšťaty (vektory infekce) sají krev rezervoárových zvířat, nejčastěji ptáků a hlodavců

Stavba a biologické vlastnosti

- odpovídá stavbě gramnegativních bakterií - cytoplasmatická membrána s tenkou vrstvou peptidoglykanu + zevní membrána
- zevní membrána je v porovnání s *E.coli* vysoce fluidní
- mezi cytoplasmatickou a zevní membránou probíhají **filamenta** umožňující **pohyb** (nejsou v kontaktu s vnějším prostředím)
- jsou **mikroaerofilní**
- **kultivace** je velice obtížná, používá se tekutá **BSK půda** (Barbourova-Stoennerova-Kellyho)

Původci Lymeské boreliózy

- *Borrelia burgdorferi* se dělí na několik genetických druhů, tzv. genomospecies
- etiologicky se na lymeské borelióze podílí celosvětově nejčastěji *Borrelia burgdorferi sensu lato*, v České republice *Borrelia afzelii* a *Borrelia garinii*
- *Borrelia burgdorferi sensu lato*
 - infekce hlavně v USA a západní Evropě
 - rezervoárovým zvířetem jsou ptáci a hlodavci
 - postižení především kloubů a srdce
- *Borrelia afzelii*
 - infekce hlavně v Evropě
 - rezervoárovým zvířetem jsou nejčastěji hlodavci
 - těsný vztah ke kožním příznakům (erythema chronicum migrans)
- *Borrelia garinii*
 - infekce hlavně v Evropě
 - rezervoárovým zvířetem jsou nejčastěji ptáci
 - spojována s neurologickými příznaky nastupujícími po erythema migrans

Antigeny způsobující lymeskou boreliózu

- bílkoviny zevní membrány - OspA (lipoprotein), OspB, OspC a další povrchové lipoproteiny (OspD, OspE, OspF)
- borrelie jsou schopné své antigeny měnit v závislosti na svém životním cyklu, to jim dává schopnost unikát protilátkové odpovědi
 - např. borrelie v sajícím klíštěti mají OspA, ale tento antigen není u borélií, které již infikovaly hostitele, u nich se objeví OspC, později však může být OspA opět navozena
- flagelin - není vyhraněně specifický, sdílí epitopy s jinými bakteriemi a proto může být příčinou falešné positivity v sérologii.
- proteiny p18, p39, p100 – proteiny zapojené do stimulace protilátkové odpovědi
- v časném stádiu boreliózy je tvorba protilátek IgM stimulována flagelinem a OspC.
v pozdním stádiu boreliózy je tvorba protilátek IgG stimulována proteiny p18, p39 a p100.

Lymeská borelióza

- infekce probíhá ve fázích - časně lokalizované stádium, časně diseminované stádium, pozdní stádium
- projevy jsou rozmanité - kožní, neurologické, interní, psychiatrické; často jsou málo specifické

a) časně lokalizované stádium

- borrelie vstupují do kůže nejčastěji při **sání infikovaným klíštětem**
- v pokožce se pomnožují, u části pacientů vyvolávají charakteristický **erytém**
- prvotní výsev erytému má průměr minimálně 5 cm, objevuje se nejčastěji za **7 - 10 dní** po přisátí klíštěte (rozsah 3 - 30 dní)
- pokud se vyskytnou i další erytemová ložiska, mohou být od prvotního vzdálená (**erythema migrans**)
- kromě kožních projevů se objevují **nespecifické příznaky** jako **bolest hlavy, zvýšená teplota, nechutenství, únava, bolest svalů a kloubů, lymfadenitida**
- protože se u některých pacientů erythema nevyvine, projeví se jen nespecifické příznaky a borelióza není včas diagnostikována a léčena

b) časně diseminované stádium

- během několik dnů až týdnů jsou borrelie hematogenně diseminovány do celého organismu
- typicky kožní projevy:
 - **erythema chronicum migrans**
 - **borreliový lymfocytom** (drobné nebo větší nafialovělé uzlíky a hromadění lymfocytů, vyskytují se na obličejí, ušních lalůčkách, v oblasti prsních bradavek, pohlavních orgánů, apod.)
- dále se můžou vyskytnout projevy:
 - **neurologické** - periferní a kraniální neuritis, meningopolyneuritis
 - **revmatologické** – lymeská artritida (migrující rekurentní či intermitentní mono nebo oligoartritida)
 - **kardiální** - myocarditis (s arytmiemi), pancarditis
- v této fázi onemocnění (nejčastěji ve 3. - 4. týdnu po přisátí klíštěte) se **začínají tvořit protilátky**, zpočátku IgM. Kolem 4-6 týdne pak začíná tvorba IgG

c) pozdní stádium

- po měsících až letech
- ke kožním projevům patří **acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)** - degenerace podkoží, predilekčními místy jsou akra (okrajové části těla) a kožní plochy nad velkými klouby; červené nebo modročervené léze, postupně atrofují, kůže je tenká a vrásčitá, cévy jsou dobře viditelné; dlouhotrvající postižení je provázeno periferní neuropatií
- z ostatních projevů např. **lymeská artritida, karditida, chronická progresivní encefalitida, chronická polyneuritida**

Patogeneze

- u borrelií nebyly dosud identifikovány žádné faktory virulence jako toxiny či enzymy
- borrelie mají schopnost dlouhodobě přetrvávat v tkáních organismu a unikat imunitní odpovědi
- v lokalizované fázi infekce dochází k humorální i buněčné imunitní reakci. Proliferace T-lymfocytů předchází humorální odpověď a nemizí ani po potlačení infekce antibiotiky
- do oblastí s maximem borelií pronikají mononukleáry (chemotakticky na ně působí OspA a flagelin)
- antigeny lipopolysacharidového charakteru vyvolávají reakce podobné vniknutí endotoxinu do organismu.
- vyvolávají uvolnění IL-1 z makrofágů, následované tvorbou kolagenasy a uvolněním prostaglandinů – tyto děje se podílejí na poškození kloubů a synovie u borreliových artritid, mají podíl na rozvoji horečnatých stavů i dalších nespecifických příznaků
- borrelie se šíří krví k orgánům, ale jakmile nastoupí specifická imunitní odpověď, z krve vymizí
- v tkáních dlouhodobě perzistují, není ale dosud známo, zda pozdní projevy onemocnění jsou reakcí na živé bakterie, nebo důsledkem zkřížené reaktivity vůči borreliovým antigenům

Léčba

- především peniciliny (amoxicilin, penicilin G), cefalosporiny II. a III. generace, makrolidy (klaritromycin, azitromycin)
- u dospělých především doxycyklin (snižuje riziko přechodu do chronického stádia)
- důležitá je dostatečná délka terapie, aby byly všechny borrelie eradikovány (alespoň 2 týdny, raději i déle)
- v časně fázi onemocnění stačí perorální léčba, v pozdní fázi parenterální léčba

Epidemiologie a prevence

- ČR je zemí se značným proměněním klíšťat boreliemi (1-30%) a vysokým výskytem lymeské boreliózy
- pravděpodobnost nákazy – 2%, koreluje s délkou sání
- nálezy protilátek v tzv. zdravé populaci (bez klinických příznaků) – IgG u 10% zdravých osob, IgM zhruba u 2-3% zdravých
- základem prevence je chránit se před kontaktem s klíšťaty a klíšťata přisátá co nejdříve šetrně odstranit (doporučuje se např. pinzetou klíště vyviklat, nedoporučuje se ho vykroutit - vede to k většímu úniku infikovaného materiálu)
- po odstranění klíštěte by se měla ranka dezinfikovat, nejlépe **jodovým desinfekčním prostředkem**
- vakcína v ČR není k dispozici (je k dispozici v USA, ale ta před evropskými kmeny nechrání)

Diagnostika

- typický klinický obraz je pouze u části nemocných, u velké části pacientů nelze z klinických a anamnestických dat usuzovat na etiologii, a je nutný průkaz laboratorně
- přímý průkaz:
 - využívá se především pokud selžou metody sérologické - u části pacientů se nemusí vyvinout protilátková odpověď
 - **kultivace** - 7 až 14 dní v BSK médiu, citlivost není uspokojivá
 - **elektronová mikroskopie** - citlivost vyšší než u kultivace, vhodným materiálem je krev, kůže z okraje lézí, z lymfocytomů nebo punktát z kloubů
 - **mikroskopie v zástinu** - citlivost není dostatečná
 - **polymerázová řetězová reakce** - nemá vždy potřebnou specifitu a citlivost
- nepřímý průkaz
 - **ELISA**
 - používá se jako screeningová metoda, protože specifita ani citlivost není optimální,
 - neprokazuje protilátky u 20% osob s nálezem borrelií v séru nebo likvoru
 - výsledky se liší podle antigenu použitého v diagnostické soupravě (v ČR *B. afzelii* a *B. garinii*)
 - v diagnostice se doporučuje se dvoustupňové vyšetření (ELISA + westernblot)
 - průkaz IgM – od 2. – 4.týdne
 - průkaz IgG – od 6. – 8.týdne
 - **imunofluorescence** - subjektivní hodnocení, nemožnost automatizace
 - **Western-blot** - vysoká citlivost, můžou být detekovány protilátky i při negativním výsledku ELISA

Původci návratných horeček

Borrelia recurrentis

- spirálovitá, aktivně pohyblivá, mikroaerofilní, obtížně kultivovatelná bakterie
- vyvolává **typhus recurrens**
- lze ji kultivovat na tkáňových kulturách a na kuřecích embryích
- onemocnění přenáší **veš šatní**, rezervoárem je pouze člověk
- za 5 - 10 dnů po infekci se borrelie pomnoží v krvi hostitele a vyvolává **horečku** → po několika dnech borrelie vymizí, horečnatý stav klesne → za několik dalších dní dojde k novému množení bakterií v krvi (*s novými a pro tělo neznámými antigeny*) a k další horečce → horečky se několikrát opakují, postupně jsou lehčí a trvají kratší dobu
- dále se může vyskytnout **hepatosplenomegálie** nebo **ikterus**
- v **terapii** se používají **tetracykliny**
- **epidemiologie**: onemocnění je vázáno na zavšivenou populaci a nehygienické podmínky (války, oblasti po přírodních katastrofách)
- **diagnostika**:
 - přímý průkaz **mikroskopicky** z krve (v zástinu, imunofluorescenčně, po obarvení Giemsou) nebo **kultivací** na kuřecím embryu nebo tkáňové kultuře
 - nepřímý průkaz **protilátek sérologicky** (Weilova-Felixova reakce – aglutinace s kmenem protea OX-K, který dokáže vzniklé protilátky nespecificky shlukovat)

Borrelia hermsii

- vyvolává **endemické návratné horečky**
- zoonózy přenášené klíšťaty, rezervoárem jsou hlodavci, kozy nebo prasata
- klíště se sáním infikuje a přenáší nákazu na potomky
- klinický obraz stejný jako u typhus recurrens - **horečnaté stavy s asi týdenními afebrilními pauzami**
- výskyt hlavně v Asii, Africe, Střední a Jižní Americe

33a. Rod *Rickettsia*

Morfologie

- gramnegativní malé **kokobacily**
- **obligátně intracelulární** patogeny
- lépe než Gramem se barví podle Giemsy nebo Gimenéze
- množí se příčným dělením a mají dlouhou generační dobu
- využívají speciální mechanismy k získání ATP, NAD, cukrů, AMK a dalších látek z cytosolu hostitele
- přirozenými **hostiteli jsou obratlovci** (hlodavci, psi, apod.) včetně člověka
- jako **přenašeči** slouží různí **členovci**, v jejichž střevním epitelu se rickettsie množí
- v okruhu hostitelů se udržují cirkulací mezi primárním hostitelem a vektorem

Kultivace

- průkaz je poměrně obtížný, jak klinicky, tak laboratorně
- kultivuje se na **buněčných kulturách, kuřecích zárodcích a citlivých zvířatech** (myši, morčata)

Odolnost

- **málo odolné** vůči zevnímu prostředí
- při chladničkové teplotě rychle hynou, při pokojové teplotě vydrží jen 1 den
- v přirozených podmínkách (např. ve výkalech vší) snesou vyschnutí

Struktura a antigenní typy

- většina druhů má **společně antigeny** s tělovými antigeny **proteů**
- podle klinické manifestace onemocnění, přenašečů a geografického výskytu je rozdělujeme do dvou skupin:
 - skupina skvrnitých horeček
 - skupina tyfových horeček
- rickettsie obou skupin mají stavbu buněčné stěny charakteristickou pro gramnegativní bakterie
 - zevní a vnitřní membrána, mezi nimi peptidoglykanová vrstva (obsahuje diaminopimelovou a muramovou kyselinu, a lipopolysacharidy)
 - v zevní membráně druhově specifické proteiny
 - na povrchu **polysacharidová slizová vrstva**
- tyto povrchové proteiny a lipopolysacharidy buněčné stěny tvoří dvě komponenty, kterými se obě skupiny od sebe odlišují

Patogeneze

- rickettsie pronikají do těla **kousnutím** nebo **výkaly infikovaného přenašeče** (klíšťata, roztoči, vši, blechy)
- s výjimkou skvrnivky je člověk v přirozeném koloběhu rickettsií jen náhodným článkem

- v místě vstupu (nejčastěji v kůži) se pomnoží, dál se šíří krevním řečištěm
- **infikují endotelie** drobných cév a kapilár kůže, mozku, plic, ledvin i jiných orgánů + někdy **infikují hladké svalové buňky**
- vazba rickettsie na endotelovou buňku indukuje fagocytózu → agens se dostává do endotelové buňky, fosfolipasy A narušuje fagosom a uvolňuje se do cytoplasmy hostitelské buňky, kde se množí → další vývoj závisí od druhu bakterie:
 - ***Rickettsia prowazekii*** a ***Rickettsia typhi*** se množí uvnitř napadené buňky až do jejího úplného naplnění, poté dojde k lýze, buňka praskne a bakterie se uvolní do okolí (mechanismus lýzy je nejasný, určitou roli hraje opět fosfolipasa)
 - ***Rickettsia rickettsii*** a ***rickettsie skvrnitých horeček*** navozují tvorbu filopodií (výběžků), kterými prostupují a uvolňují se do okolí, kde napadají další buňky. Nejspíše díky neustálému prostupu přes membránu dochází k vnikání vody do buněk, voda se shromažďuje v cisternách ER, cisterny dilatují a jsou poškozovány
- poškození endotelu a buněk hladké svaloviny je pravděpodobně způsobeno přímo rickettsií (aktivitou rickettsiální fosfolipasy, proteasy, nebo díky oxidaci buněčné membrány volnými radikály)
- z **obránných mechanismů** hrají důležitější roli než protilátková imunita hlavně T-lymfocyty zprostředkovaná imunita a cytokiny (TNF-alfa, interferon-γ)
- na výsledném **klinickém efektu** se podílí mnohočetné endoteliální poškození, ztráta intravaskulární tekutiny a její přesun do tkáňových prostorů (edém) → následná hypovolémie a pokles tkáňové perfuze vede k poruchám funkcí tkání, zahrnuje příznaky jako **pokles tlaku, bolest hlavy, akutní renální selhání, syndrom respirační tísně**

Epidemiologie

- onemocnění se vyskytuje tam, kde se vyskytují infikovaní členovci a jejich rezervoároví hostitelé, **nelze zcela vymýtit**, lze pouze snížit počty hlodavců či ektoparazitů
- proti mnohým rickettsiozám neexistuje účinné očkování
- chemoprophylaxe se nedoporučuje, pouze zpomaluje množení bakterií a nemoc vypukne hned po jejich vysazení

Léčba

- používají se širokospektrá antibiotika jako **doxycyklin** nebo **chloramfenikol**

Laboratorní průkaz

- provádí se v laboratořích vybavených pro práci s vysoce infekčním materiálem
- **kultivace** na buněčných kulturách, ve žloutkovém vaku kuřecích embryí nebo na citlivých zvířatech (myš, morče); volně na agaru rickettsie nerostou
- **průkaz antigenů** ve vzorcích z kožních lézí pomocí značených specifických protilátek (rozlišují se kapsulární antigen a antigen buněčné stěny)
- k **nepřímé sérologii**
 - **KFR** - průkaz protilátek proti skupinovým i druhově specifickým antigenům, pozitivní je alespoň čtyřnásobný vzestup titru
 - **nepřímá imunofluorescence/IFA** - prokáže protilátky od 2. týdne infekce
 - dále **latexaglutinační reakce, ELISA, Western-blot, PCR**
- **Weilova-Felixova reakce** prokazuje protilátky zkříženě reagující s O-antigeny kmenů *Proteus vulgaris*

1. SKUPINA SKVRNITÝCH (purpurových) HOREČEK

- infekční agens jsou **přenášeny klíšťaty** - v nich se udržují transstadiálním (z larvy na nymfu, z nymfy na dospělého jedince) a transovariálním (z dospělého jedince na potomka) přenosem
- člověk se nakazí přisátím infikovaného klíštěte nebo potřísněním oděrek a sliznic
- **včasné vytažení klíštěte** do 24 hodin po přisátí **snižuje riziko** onemocnění
- primárně jsou infikovány buňky endotelu; mezi příznaky patří **horečka** a **makulopapulární vyrážka**, která začíná na končetinách a šíří se centrálně (na trup) + u některých typů se objevuje **příškar**

Horečka Skalistých hor – *R. Rickettsii*

- přenášena klíšťaty, které sají krev drobných nakažených savců
- při sání se rickettsie vylučují ze slinných žláz klíštěte
- příznaky - náhlá horečka, vyrážka (nejprve na končetinách, pak na trupu), trombocytopenie
- fatální průběh častěji u černochů - postrádají glukosa-6-fosfátdehydrogenasu, dochází u nich k intravaskulární hemolýze
- patogeneze: onemocnění poškozuje endotel krevních cév, to v kůži vede k viditelným hemoragiím. Může se objevit trombocytopenie
- mortalita neléčené formy asi 25%
- léčba tetracykliny, chloramfenikol

Středozevní horečka – *R. Conorii*

- vyskytuje se hlavně v oblasti Středozevního moře, ale i jinde v Evropě
- přenašečem je infikované psí klíště
- příznaky- vysoká teplota, bolest hlavy, vyrážka, u některých pacientů příškar v místě přisátí

Astracháňská horečka – *R. mongolotimonae*

- rickettsie byly zavlečeny do Evropy z mongolské oblasti, v Evropě je přenašečem psí klíště
- název podle výskytu v oblasti Astracháně u Kaspického moře

Africká skvrnitá horečka – *R. africae*

- horečka je méně často doprovázena vyrážkou, naopak bývají četné ložiska příškvarů a lymfadenopatie
- u všech zmíněných skvrnitých horeček je lékem volby doxycyklin, po onemocnění následuje doživotní imunita

R. slovaca

- poprvé zachycena na Slovensku, kromě Slovenska se vyskytuje hlavně v Maďarsku nebo Francii
- přenašečem je klíště piják stepní nebo piják lužní (aktivní na jaře a na podzim)
- projevy - horečka, příškar ve vlasaté části hlavy (někdy vede až k alopecii v místě přisátí) a zvětšené uzliny

Rickettsiové neštovice – *R. akari*

- projevy - horečka, lymfadenopatie, generalizovaný exantém (nejprve makulopapulární, později vezikulární), příškvary
- **přenašečem** jsou **roztoči**, rezervoár tvoří pravděpodobně myš
- název neštovice vznikl proto, že pacienti měli puchýřky podobné variolovým

2. SKUPINA TYFOVÝCH HOREČEK

- infekční agens jsou **přenášena vši šatní** nebo **blechami**;
- prevencí je dodržování hygieny a důkladné odvšivení
- obdobně jako u skvrnitých horeček jsou primárně infikovány endoteliální buňky
- mezi příznaky patří **horečka** a **vyrážka**, která se šíří z trupu do periferie (*naopak než u skvrnitých horeček!*)

Skvrnitý tyfus – *R. prowazekii*

- typický je přenos člověk – veš - člověk
- inkubační doba 8 - 20 dní
- objevují se nespecifické příznaky a vysoká horečka
- asi po týdnu horeček se objevuje vyrážka na hrudníku a postupuje dále s výjimkou obličeje, dlaní a plosek nohou
- růžové skvrny se postupně mění na výrazné hnědočervené splývající pupeny
- s manifestací vyrážky se klinický stav zhoršuje
- u neléčených případů je mortalita až 50%
- po prodělaném akutním onemocnění může mikrob přetrvat v endoteliálních buňkách a po určité době (i s odstupem let) dojde ke vzplanutí nemoci - recidiva se nazývá **Brillova-Zinsserova nemoc (typhus recrudescens)**, průběh je mírnější
- onemocnění se vyskytuje hlavně v chudých čtvrtích, u bezdomovců, obecně u zavšivené populace (světově - Mexiko, Jižní Amerika, střední a východní Afrika, mnoho států Asie)
- na našem území proběhla poslední velká epidemie na konci 2sv. války v koncent. táboře Terezín
- nemoc přenáší **veš šatní**, infikuje se nasátím krve nemocného člověka a za 3 - 4 dny může infikovat další jedince, až do doby jejího uhynutí (cca 2 týdny)
- při sání krve vši defekují a vylučují rickettsie, trus je zanesen do rány při škrábání
- po prodělaném onemocnění se vytváří imunita
- očkování se v současnosti neprovádí, používala se atenuovaná vakcína, ale asi u čtvrtiny pacientů způsobovala mírnou skvrnivku
- před odjezdem do endemických oblastí lze profylakticky podávat chloramfenikol (?????!!!!)
- v ohnisku nákazy je nutné zajistit odvšivení osob, dezinfekci šatů apod. a udržovat hygienu
- diagnostika:
 - epidemiologická anamnéza a klinický obraz
 - izolace původce z krve, průkaz na morčeti
 - sérologická vyšetření - Weilova-Felixova reakce, KFR
- **léčba**: perorální tetracyklin, tak dlouho, až dojde k vymizení horečky

Endemický (myší) tyfus – *R. typhi*

- onemocnění se vyskytuje v zemích s teplým klimatem, v přístavech a jiných lokalitách s vysokým výskytem krys
- přenašečem je **blecha**, infekce člověka přenosem z malých hlodavců
- inkubační doba 7 - 14 dní
- symptomy - bolest hlavy, bolest svalů, horečka
- asi po týdnu se objevuje makulopapulární exantém na hrudníku a na břiše
- průběh onemocnění je většinou bez komplikací, a to i u neléčených osob

33b. Rod *Coxiella*

- zástupce - *Coxiella burnetii* – původce zoonózy zvané **Q-horečka**

Morfologie

- drobné **gramnegativní tyčinky**
- lépe než Gramem se barví podle Giménez
- stěna má stavbu typickou pro gramnegativní bakterie
- **obligátní intracelulární** parazité, dokážou se množit ve fagolysosomech makrofágů, kde přežívají i při nízkém pH
- vykazují **ultrastrukturální pleomorfismus** - zahrnuje velké a malé buněčné varianty a formy podobné endosporám; nejspíš má tedy jakýsi vývojový cyklus
- **vysoce infekční**, k onemocnění stačí malé množství
- **odolnost: vysoce odolné** k vyschnutí a světelné expozici; v aerosolu přežívají měsíce

Antigenní struktura

- klasická stavba stěny jako u G- bakterií – obsahuje peptidoglykan, proteiny, lipopolysacharidy
- při delší kultivaci in vitro se antigenní složení mění - dochází k tzv. **fázové variaci**
 - v přirozeném prostředí (v hostitelích) jsou ve **fázi I** - fáze vysoce infekční, odpovídá S-fázi enterobakterií
 - při kultivaci in vitro jsou ve **fázi II** - málo infekční, odpovídá R-fázi
- podstatou fázové variace jsou změny ve struktuře lipopolysacharidů - ve fázi II chybí některé proteiny a cukry, používá se k přípravě vakcín

Patogenita

Q-horečka

- probíhá ve dvou formách - jako akutní horečnaté onemocnění s atypickou pneumonií nebo jako chronická infekce s endokarditidou
- název Q-horečka je odvozen z anglického „*queer*“ = *podivný*, odráží charakteristický syndrom akutní formy onemocnění - atypickou pneumonii, při které se vyskytuje rozsáhlý RTG nález, ale je bez výrazného kašle, expektorace a ostatních fyzikálních nálezů

a) akutní infekce

- **akutní horečnaté onemocnění s atypickou pneumonií**
- tři hlavní symptomy - **horečka, plicní symptomy a zvýšené jaterní enzymy**
- komplikace: hepatitida, méně často myokarditida, perikarditida nebo meningoencefalitida

b) chronická infekce

- vede často k endokarditidě, která může být zjištěna až za 3 - 20 let
- chronickou formou jsou více ohroženi lidé s předchozím onemocněním chlopní, s oslabenou imunitou a těhotné ženy

Patogeneze

- k infekci dochází **vdechnutím aerosolu**, méně často požitím nepasterizovaného mléka, zcela ojediněle přísátím klišťete
- po vdechnutí pronikne agens do makrofágů plicních alveolů, způsobí atypickou pneumonii a šíří se dál krví do cílových buněk (makrofágy jater, kostní dřeně a sleziny)
- bakterie jsou fagocytovány makrofágy → dále se **množí uvnitř fagolysosomů** aniž by poškozovali makrofágy
- závažnější je spíše imunitní odpověď hostitele, zahrnuje **zánětlivé reakce**, např. T-lymfocyty zprostředkovaná tvorba granulomů
- imunita vzniklá po onemocnění je celoživotní

Epidemiologie

- Q-horečka se vyskytuje ve všech světadílech
- často postihuje veterináře, řezníky, farmáře, pracovníky diagnostických laboratoří, apod.
- jako **rezervoár** se uplatňují **hlodavci**, od hlodavců se nakazí dobytek a jiní savci
- **přenašečem** je **klišť obecné, piják lužní, piják stepní, klišťák obecný a klišťák netopýří**
- u infikovaných zvířat probíhá nákaza většinou asymptomaticky
- člověk se může nakazit z exkrementů infikovaných zvířat, nepasterizovaným mlékem, kontaktem s infikovanou placentou nebo plodovou vodou březích samic, apod.

Prevence

- konzumace pouze pasterizovaného mléka, kontrola dovážených zvířat a jejich produktů, dodržování bezpečnostních opatření při práci s podezřelými zvířaty nebo při práci v laboratořích, apod.
- existuje inaktivovaná vakcína, není však běžně dostupná

Léčba

- **deriváty tetracyklinu** (nejčastěji **doxycyklin**) až do ukončení horečky
- u chronické formy měsíce až roky kombinace doxycyklinu s rifampicinem, co-trimoxazolem nebo fluorochinolony

Laboratorní průkaz

- izolace infekčního agens z krve
 - na kuřecích zárodcích, myších, morčatech nebo buněčných kulturách
 - pouze ve specializovaných laboratořích
- sérologický průkaz protilátek
 - převažuje v praxi
 - KFR, nepřímá imunofluorescence, mikroaglutinace, ELISA
 - u čerstvých infekcí se objevují nejdříve protilátky proti antigenu II. fáze, po asi 10. týdnech se i antigeny I. fáze

34. Rod *Mycoplasma* a *Ureaplasma*

Rozdělení

- Rod *Mycoplasma*: *Mycoplasma pneumoniae* – dýchací cesty; *Mycoplasma hominis*
- Rod *Ureaplasma*: *Ureaplasma urealyticum*

Morfologie

- nemají rigidní buněčnou stěnu – jednotlivé buňky jsou obalené pouze třívrstevnou membránou tvořenou proteiny a lipidy.
- významnou komponentou membrány je cholesterol.
- díky nepřítomnosti buněčné stěny mohou mít různý tvar - kulovitý, ovoidní, prstencovitý, nebo vláknité útvary
- díky nepřítomnosti buněčné stěny se Gramem nebarví, je však možné barvení podle Giemsy (v diagnostice se ale mikroskopický průkaz nepoužívá)
- velikost se pohybuje od 0,1 do 0,3 μm , proto jsou také schopna procházet póry bakteriologických filtrů. Jsou zatím nejmenším bakteriálním lidským patogenem.

Kultivace

- Mykoplasmy mají omezené možnosti biosyntézy, zřejmě v souvislosti s omezenou genetickou informací, a proto vyžadují pro svůj růst komplexní média
- půdy obohacené o prekursorů nukleových kyselin a steroly
- vyžadují pro svůj růst přítomnost cholesterolu a zvýšenou tenzi CO_2
- půdy obsahují pepton, kvasničný extrakt a zvířecí sérum (zdroj cholesterolu)
- potlačení jiné flóry – ATB působící na buněčnou stěnu (penicilin, ampicilin)

Morfologie kolonií

- *M. hominis* – největší kolonie vzhledu sázeného vejce (volského oka), jeho kolonie jsou za několik dnů patrné i pouhým okem a jako jediné vyrostou i na KA
- ostatní mykoplasmata tvoří kolonie viditelné mikroskopicky
- *M. pneumoniae* – menší zrnité kolonie s užším transparentním lemem
- *U. urealyticum* – zcela drobné kolonie, homogenně zrnité

Biochemická aktivita

- *M. pneumoniae* fermentuje glukosu
- *M. hominis* využívá arginin
- *U. urealyticum* ureu
- test redukce tetrazolia – rutinně užívaný pro odlišení *M. pneumoniae* od jiných podobně rostoucích druhů resp. traktu

Antigenní struktura

- *M. pneumoniae* – antigenně homogenní, existuje pouze v 1 sérotypu
- *M. hominis* - antigenně heterogenní, celkový počet sérotypů dosud není známý
- *U. urealyticum* – u lidí sérotypy 1-8

Patogeneze

- *M. pneumoniae*
 - P_1 – membránový protein, adherence na hostitelskou buňku
 - další antigeny mykoplasmat mohou interagovat s lymfocyty a ovlivňují tak imunitu
 - poškození buněk bývá připisováno i tvorbě peroxidu vodíku
 - bakterie napadá epitelální buňky respiračního epitelu bez toho, aby do nich přímo vnikla. Přítomnost mykoplasmat na epitelálních buňkách může trvat řadu týdnů, aniž by se projevil příznaky onemocnění

- *U. urealyticum*
 - produkce fosfolipasy – role ureaplasmat při vzniku zánětů plodových blan s perinatální morbiditou a mortalitou
 - hlavní mechanismus – produkce kys. arachidonové – syntéza prostaglandinů
 - fosfolipasy se zřejmě uplatňují i při vzniku fatálních plicních onemocnění nedonošených novorozenců

Patogenita

- primární atypická pneumonie (*M. pneumoniae*)
 - infekce se přenáší kapénkami, avšak bronchopneumonie se vyvine jen u malého procenta nemocných. Zbytek infekcí je bezpříznakových či lehkých.
 - nejvíce bývají postiženy děti školního věku a dospívající
 - příznaky: pomalu stoupající teploty, malátnost, pocit ucpaného nosu
 - atypická pneumonie je charakterizována chudým fyzikálním a bohatým RTG nálezem.
 - v RTG obraze typické bohaté infiltráty stěhovavého charakteru.
 - při správné diagnóze většinou nevznikají komplikace a léčba není náročná
 - pokud se vyskytnou komplikace, mohou mít velice různorodý charakter - *průjemy, hepatitida, sekundární anemie, multifonní erytém, meningoencefalitida, poruchy motorických nervů, myokarditida, perikarditida, myalgie, artritida, ...*
 - závažný průběh se může vyskytnout u osob s těžkými poruchami imunity - úmrtí v relativně krátké době (nejčastější příčinou úmrtí je diseminovaná intravaskulární koagulace)
- infekce urogenitálního traktu (*M. hominis, U. urealyticum*)
 - nachází se v urogenitálním traktu klinicky zdravých osob, u žen v 35 - 80%
 - při vzniku onemocnění hrají roli věk, pohlavní aktivita, počet sexuálních partnerů, sociálně-ekonomické zázemí, apod.
 - u žen – účast na vzniku endometritid, chorioamniotitid, případně předčasných ruptur plodových blan
 - u mužů – podílí se na vzniku prostatitid s častou tendencí k přechodu do chronicity
 - u žen i u mužů - non-gonorrhoické uretritidy (spolu s ureoplasmaty nebo chlamydiemi)
 - infekce urogenitálního traktu bývají obecně často sdruženy s jinými bakteriálními onemocněními, především s infekcemi vyvolanými *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae* a *Streptococcus agalactiae*
 - přítomny v hemokulturách asi 10% žen s poporodní horečkou. Tyto mikroby osidlují vaginu a snadno pronikají placentární bariérou a kontaminují amniovou tekutinu a krevní oběh matky. Při předčasné ruptuře plodových blan dochází k průniku ureoplasmat pravidelně – riziko rozvoje endometritidy.

Terapie

- tetracykliny (doxycyklin), makrolidy (azitromycin, klaritromycin) a fluorochinolony (ofloxacin, fluorochinolony IV. gen)
- důležitá je délka aplikace antimikrobního přípravků (2-3 týdny podle použitého antibiotika a klinického stavu).

Epidemiologie

- *M. pneumoniae* – výskyt celosvětově, zdrojem nákazy je pouze nemocný člověk, šíření vzdušnou cestou; inkubační doba 2-3 týdny
- urogenitální druhy – přenos pohl. stykem, příp. přes placentární bariéru z matky na plod

Laboratorní průkaz

- rutinně přímý průkaz – speciální tuhé či tekuté média
 - o u přímého průkazu se využívá i jejich biochemické aktivity:
 - tekutá média s argininem – *M. hominis*
 - média s ureou – *U. urealyticum*
 - pevné půdy s glukózou – *M. pneumoniae*
- k odlišení *M. pneumoniae* – test redukce tetrazolia, test hemadsorpce morčecích erytrocytů, test inhibice růstu protilátkou
- k určení *M. hominis* a *U. urealyticum* štěpení příslušných substrátů (arginin, resp. urea)
- PCR – průkaz mikroba nebo jeho součástí v materiálu
- nepřímý průkaz (KFR, ELISA) – pouze u infekcí *M. pneumoniae*

35. Rody *Chlamydia* a *Chlamydophila*

Definice

- jsou to bakterie s obligátním nitrobuněčným parazitismem. Říkají se jim „energetičtí parazité“, poněvadž jsou závislí na ATP z hostitelské buňky.
- neobvyklé složení buněčné stěny – jsou sice strukturálně podobné G- bakteriím, ale postrádají peptidoglykan, zato mají větším množstvím lipidů
- množí se unikátním růstovým cyklem, při němž se mění morfologie bakteriální buňky

Zástupci

- rod *Chlamydia* – *C. trachomatis*
- rod *Chlamydophila* – *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. pecorum*

Biologické vlastnosti

- při množení chlamydií se mění morfologie bakterií
 - do buňky proniká infekční částice zvaná elementární tělísko, procesem podobným endocytóze
 - elementární tělísko zůstává ve fagosomu, protože je blokována fagolysosomální fúze.
 - po několika hodinách se transformuje v metabolicky aktivní retikulární tělísko
 - to se dělí binárním dělením, přičemž spotřebovává energii hostitelské buňky
 - pak se retikulární tělísko mění opět v tělísko elementární.
- koncem růstového cyklu, který trvá 2 až 3 dny, je cytoplasma hostitelské buňky naplněná elementárními tělisky, takže praská a elem. těliska se vysévají a napadají další vnímavé buňky.
- někdy mohou být elementární těliska vypuzována i exocytózou
- fagosomy s retikulárními tělisky představují nitrobuněčné inkluze, které lze detekovat barvením

Morfologie

- elementární tělísko:
 - adaptované pro extracelulární život a pro iniciaci infekce
 - má rigidní buněčnou stěnu díky disulfidickým vazbám v komplexu vnějších membránových proteinů (MOMP)
 - je infekční, nedělí se, má inaktivní metabolismus a ve většině případů obsahuje extrachromosomální DNA (tzv. kryptický plazmid).
- retikulární tělísko
 - adaptované pro intracelulární život
 - není infekční, dělí se
 - obsahuje difúzně rozptýlenou DNA, což usnadňuje transkripci
 - má aktivní metabolismus.

Kultivace

- pro svůj specifický parazitismus nejsou kultivovatelné na umělých půdách
- ke kultivaci se využívají tkáňové kultury, kuřecí embrya nebo pokusná zvířata (myši)
- průniku agens do tkáňové kultury napomáhá centrifugace, kultivace trvá nejméně 48 hodin
- po pomnožení se barví Lugolovým roztokem nebo značí imunofluorescencí a mikroskopují se
 - *Ch. trachomatis* – kulatá elementární těliska, inkluze se barví (obsahují glykogen)
 - *Ch. psittaci* - kulatá elementární těliska, inkluze se nebarví
 - *Ch. pneumoniae* - hruškovitá elementární těliska

Antigenní struktura

- lipopolysacharid – společný antigen čeledi Chlamydiaceae
- vnější membránové proteiny (MOMP) – základní druhové a kmenově specifické antigeny. Průkaz těchto antigenů, či protilátek proti nim je rutinně využíváno v diagnostice

Odolnost

- chlamydie nepatří ke zvláště odolným bakteriím
- podléhají většině desinfekčních prostředků a teplotě nad 56°C
- *Ch. psittaci* je odolnější, udrží svoji infekčnost v zaschlém ptačím trusu po několik měsíců.

Patogenita

Ch. trachomatis

- **Trachom** (sérotypy A, B, Ba, C)
 - je chronická keratokonjunktivitida vedoucí až k ložiskovým nekrózám a k jizvám na spojivce.
 - oční víčko se jizvením stočí a při mrkání odírá rohovku řasami, takže dochází k jejímu zakalení a po 20 až 30 letech trvání onemocnění dochází ke slepotě.
 - je infikováno zhruba 500 mil. lidí a každoročně v důsledku této choroby asi 8 mil oslepne.
 - na přenosu se podílejí mouchy a jejich rezervoárem jsou děti s akutní infekcí.
 - zánět probíhá ve třech stádiích:
 1. Zánětlivé stadium
 - je charakterizováno bělavými uzlíky (folikulárními zrny) na spojivce horního víčka a v oblasti spojení rohovky a skléry (konjunktivální a limbální folikuly).
 - folikulární zrna nekrotizují, sliznice kolem nich je rudá a zduřelá.
 - sekundární bakteriální infekce dodává zánětu mukopurulentní charakter.
 2. Hypertrofické stadium
 - folikulární zrna se zvětšují a z horního limbu přes rohovku přerůstá vaskularizovaná bílá membrána, tzv. trachomový pannus.
 - jemné novotvořené vazivo s proliferujícími stromkovitými cévami proniká do rohovky.
 3. Jizevnaté stadium
 - vyznačuje se tvorbou šedých nebo bílých jizev na spojivce.
 - folikuly zmizí resorpcí nebo se jizevnatě sraští.
- **Lymphogranuloma venereum** (sérotypy L1, L2, L2a, L3)
 - je chronické onemocnění přenášené pohlavním stykem
 - charakterizováno postižením lymfatických uzlin a tvorbou bolestivých a navenek se provalujících bubonů
 - vede také k rozsáhlému destruktivnímu zánětu s následným jizvením – hlavně v oblasti genitálu a konečníku.
 - takto postiženy jsou převážně ženy, protože úvodní léčitelná stadia jsou zjevnější u mužů.
 - nemoc probíhá ve 3 stádiích:
 1. stadium: objevuje se za 1-2 týdny po expozici tvorbou nebolestivých vezikulárních nebo ulcerativních lézí na zevním genitálu, které se spontánně zhojí.
 2. stadium: následuje za několik týdnů a projevuje se zduřením inguinálních lymfatických uzlin, horečkou a zimnicí. Uzliny splývají v pakety a vytvářejí mnohotné hnisavé píštěle (poradenitis).
 3. stadium: nástup rozsáhlého produktivního zánětu genitálu a konečníku s hlubokými vtaženými jizvami a píštělemi. U mužů dochází k elefantiáze glans penis a předkožky, u žen se vyskytuje elefantiáza vulvy a chronická ulcerózní proktitida.
 - typickou lokalizací je urogenitální trakt, infikováno může být i oko, dutina ústní (cervikální lymfadenopatie) a rektum (proktokolitida u homosexuálů).

- **Genitální infekce (sérotypy D – K)**
 - představují až 50% všech urogenitálních celosvětových nákaz
 - u mužů
 - negonokokové uretritidy, epididymitidy, prostatitidy
 - mohou být doprovázeny faryngitidou, konjunktivitidou a bolestivou monoartritidou – Reiterův syndrom.
 - u žen
 - probíhají většinou asymptomaticky nebo jako chlamydiová cervicitida (=edém a epiteliální léze cervixu, sekrece mukopurulentního cervikálního hlenu)
 - dále uretritidy, salpingitidy, bartolinitidy, endometritidy, perihepatitidy
 - velmi záluďný je asymptomatický průběh – vysoké riziko přechodu do chronicity. Klinické příznaky se objeví až jako důsledek fibroproduktivního procesu, častým důsledkem je neplodnost.
 - jsou také příčinou inkluzní konjunktivitidy - onemocnění provázené mukopurulentní sekrecí, objevující se u sexuálně aktivních dospělých (patogen vniká do oka při sexuálních kontaktech), případně u novorozenců (infekce při průchodu porodními cestami)

Ch. pneumoniae

- **Respirační infekce**
 - pneumonie, bronchitidy a sinusitidy
 - infekce jsou běžné, časté v kolektivech mladých lidí, většinou lehký průběh
 - přenos kapénkovou infekcí nebo přímým kontaktem
 - záněty plic jsou podobné atypickým pneumoniím u legionel a mycoplasmat.

Ch. psittaci

- **Psitakóza**
 - zvířecí patogen přenosný na člověka, původce psitakózy (neboli „papouščí nemoci“) a ornitózy pro ptáky obecně.
 - může být v peří, exkrementech, krvi a v tkáních na pohled zdravých jedinců.
 - infekce vstupuje do organismu vdechnutím prachu kontaminovaného ptačími exkrementy.
 - manifestuje se jako atypická pneumonie
 - projevy: vysoká horečka, zchvácenost, bolesti hlavy, svalů, kloubů, suchý kašel
 - v některých případech příznaky z postižení CNS, příp. příznaky systémové – hepatomegalie, splenomegalie
 - diagnostika – nejčastěji sérologická

Patogeneze

- přímá destrukce buněk těchto sliznic, které mají receptory pro elementární tělíska – sliznice urogenitálního systému, dýchacích cest, spojivky, v případě lymphogranuloma venereum i mononukleáry
- buňky jsou během replikace destruovány, na poškození sliznic navazuje zánětlivá odpověď.
- infekce nevyvolává dlouhotrvající imunitu, zato reinfekce rozvíjejí a prohlubují zánět, po němž následuje jizvení, znamenající např. ztrátu zraku, neplodnost.

Terapie

- dlouhodobé podávání ATB (2–3 týdny), zasahuje totiž nejlépe v době přeměny elementárního tělíska na retikulární, přičemž v různých buňkách mohou být chlamydie v různých fázích cyklu
- makrolidy (azitromycin), dále tetracykliny, fluorochinolony
- u dětí – makrolidy; tetracykliny a chinolony jsou kontraindikované
- azitromycin lze podávat i těhotným; jeho výhodou je i cílený transport fagocyty na místo zánětu
- zásadou je léčba všech sexuálních kontaktů.

Epidemiologie

- urogenitální infekce způsobené *Ch. trachomatis*
 - jsou nejčastějšími bakteriálními sexuálně přenosnými infekcemi (více než 50%), nejčastěji u lidí do 30 let
 - vzhledem na častý asymptomatický průběh je kladen důraz na prevenci (bezpečný sex)
 - často se chlamydiová infekce projeví až jako přetrvávání obtíží po léčbě kapavky – tzv. postgonokoková uretritida (chlamydiová infekce je totiž často spjata s jinými STD)
 - cervikální chlamydiová infekce – rizikový faktor pro vznik karcinomu cervixu
- *Ch. pneumoniae*
 - většina primoinfektí proběhne asymptomaticky v dětském věku
 - u osob nad 60 let jsou protilátky u více než 97% populace
 - bývá často izolována z aterosklerotických plátů (není jasné, zda napomáhá vzniku aterosklerózy, nebo je kontaminace až sekundární)
- *Ch. psittaci*
 - primárním hostitelem jsou ptáci a savci, člověk je infikován hlavně stolicí ptáků
 - nakažení ptáci nebývají zjevně nemocní, masivně však vylučují agens sekrety

Laboratorní diagnostika

- přímý průkaz
 - materiál
 - urogenitální infekce – výtěr z uretry, endocervikální výtěr
 - konjunktivitidy – stěr či seškrab ze spojivky
 - odběr má být razantní, protože vzorek musí obsahovat dostatek epitelů
 - detekce antigenu metodou přímé imunofluorescence nebo ELISA, detekují se buď vnější membránové proteiny (MOMP) nebo lipopolysacharidy
 - detekce DNA metodou PCR, citlivost 90-98%
 - kultivace na tkáňové kultuře ošetřené cykloheximidem (eliminuje se metabolismus hostitelských buněk). Chlamydie se přinutí adherovat na povrch buněk pomocí centrifugace inokula a vzniklé inkluze se prokáží barvením Lugolovým roztokem, nebo imunofluorescenčně, Citlivost – 70-85%
- nepřímý průkaz:
 - protilátky mohou dlouhodobě přetrvávat, takže lze těžko rozlišit současnou infekci od minulé
 - naopak u primární infekce sliznic se nemusí prokazatelné hladiny protilátek vůbec objevit
 - sérologie má však význam při detekci chlamydiové pneumonie, zejm. u novorozenců
 - detekce IgM – hlavně v akutní fázi primoinfekce, poté mizí
 - detekce IgA – typické jak pro akutní stádia primárních infekcí, tak pro infekce chronické a reinfekce
 - psitakóza - KFR

36. Streptokokové infekce

1) *S. pyogenes* (beta-hemolytické)

lokalizované pyogenní (hnisavé) infekce:

- akutní tonsilofaryngitida (angina)
 - *S. pyogenes* je nejčastější původce, šíří se kapénkovou cestou
 - postihuje hlavně děti školního věku, obvykle na podzim a v zimě
 - podle vzhledu se rozeznává tonsillitis acuta catarrhalis, follicularis, lacunaris, pseudomembranosa
 - součástí je i horečka a zduření podčelistních uzlin
 - stejnoměrně šarlatově zbarvená a zduřelá sliznice tonsil až celého faryngu, nepřítomnost rýmy a kašle
- spála (scarlatina)
 - způsobují ji kmeny produkující pyrogenní exotoxin, nevzniká u osob, které mají proti tomuto toxinu protilátky
 - zdroj nákazy a cesty přenosu stejné jako u faryngitidy
 - k příznakům anginy se přidává typická vyrážka a malinový jazyk (epitel jazyka je deskvamovaný s prominujícími papilami), sliznice dutiny ústní a nazofaryngu je sytě červená
 - komplikace anginy a spály mohou být hnisavé (peritonsilární nebo retrofaryngeální absces, otitis media), vzácně toxické (syndrom streptokokového toxického šoku), případně vzniknou pozdní následky

kožní hnisavé infekce (pyodermie)

- jsou vysoce nakažlivé, z pozdních následků po nich vzniká glomerulonefritida
- impetigo
 - postihuje nejčastěji malé děti (2-6 let)
 - přenos infekce přímým kontaktem (dotykem, ale i oblečením, hračkami apod.), nakažlivost je vysoká, k infekci jsou náchylné zejména místa s porušenou integritou kůže (ekzém, drobné exkoriace, puchýře apod.)
 - povrchová infekce epidermis, nešíří se do hloubky
 - začíná zarudnutím, může pokračovat do stadia vezikul a pustul
 - vznikají nebolestivé puchýře vyplněné žlutým hnisem, zasychající strupy
 - nemá celkové příznaky, je nebolestivé, ale může být provázeno svěděním a zvětšením regionálních uzlin
- erysipel (růže)
 - pokud streptokoky proniknou hlouběji do kůže
 - ostře ohraničený zánět škáry s celkovými příznaky
 - obvykle se vyskytuje v bérkách nebo na obličeji
 - onemocnění začíná náhle zimnicí, třesavkou a horečkou, může se vyskytnout bolest hlavy, nevolnost.
 - současně se v místě vstupu infekce objeví ostře ohraničené zarudnutí kůže, jazykovitě se šíří do okolí, doprovázeno bolestivým svěděním či pálením
 - onemocnění nezanechává imunitu, může dojít k recidivám, v téže lokalitě
 - komplikace – trvalé poškození lymfatických cév – chronický otok postižené části těla

- cellulitis
 - zánět podkoží, obdoba erysipelu
 - liší se nápadnějším bolestivým otokem, není vyznačeno tak přesné ohraničení zánětu, ani jazykovité šíření
 - výrazné celkové příznaky – horečka, zimnice, bolesti hlavy
 - klinický obraz je tedy méně specifický
- hnisání rán
 - má tendenci se šířit, např. do regionálních uzlin (v podobě rudých pruhů pod pokožkou – lymphangoitis; následně hnisavý zánět uzlin – lymphadenitis suppurativa)

invazivní a toxická onemocnění

- nekrotizující fasciitis
 - infekce se šíří hlouběji v podkoží, podél svalových fascií
 - exsudativní zánět může procházet až do nekrózy
 - celkové klinické příznaky jsou vyjádřeny stejně jako u celulitidy, kožní projevy jsou však méně nápadné, lokálně je přítomna zejména bolestivost
- flegmóna
- myozitida, myonekróza
 - onemocnění probíhá pod obrazem akutní sepse, pacient je v bezprostředním ohrožení života
- pneumonie, meningitida
- seps
- poporodní seps
 - v minulosti
 - pyogenní streptokoky zavedené rukama porodníka do porodního kanálu se ranou po odloučené placentě dostaly do krve a množili se v ní
- syndrom podobný toxickému šoku (syndrom streptokokového tox. šoku)
 - zánět měkkých tkání, nápadná bolestivost v místě infekce
 - horečka, nauzea, průjemy, příznaky šoku

pozdní následky streptokokových nákaz

- revmatická horečka
 - horečnatý nehnisavý zánět srdce (poškození endokardu, myokardu, a hlavně mitrální chlopně), kloubů (stěhovavá arthritida), vzácněji CNS (chorea minor) a kůže (erythema marginatum)
 - dostavuje se několik týdnů po streptokokové angině
 - provázena celkovými známkami zánětu – zvýšená sedimentace, zvýšená hladina CRP, zvýšená a neklesající hladina protilátek proti streptokokovým antigenům (ASLO)
 - předpokládá se, že streptokoky vyvolávají tvorbu protilátek proti antigenům pouzdra, buněčné stěny a cytoplasmatické membrány; tyto zkříženě reagují s lidskými antigeny (myosin, laminin, keratin)
 - vyskytuje se častěji po infekci „revmatogenními“ sérotypy – M1,3,5,16,18
- akutní glomerulonefritida
 - dostavuje se po infekci „nephritogenními“ typy – M2,49,55,57
 - změny jsou vyvolány usazováním imunitních komplexů v glomerulech

lčba:

- cílem je zabránit vzniku pozdních následků
- penicilin - lék volby
- v případě alergie - cefalosporiny, makrolidy (narůstající rezistence!), linkosamidy (při faryngeálního nosičství)
- selhání penicilinu u přežívání streptokoků uvnitř epitelů resp. traktu, do nichž penicilin neproniká
- rezistence většiny kmenů vůči tetracyklům; sulfonamidy a kotrimoxazol zase nejsou schopny spolehlivě zamezit vzniku pozdních následků
- rezervní: glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin), linezolid, tigecyclin

2) S. agalactiae (beta-hemolytické)

novorozenecké meningitidy a sepse

- časná infekce
 - vzniká během porodu *in utero* (při předčasném odtoku plod. vody nebo při průchodu plodu porodním kanálem)
 - projeví se během prvních hodin a dní po narození
 - probíhá pod obrazem bakteriemie, pneumonie, meningitidy, septický šok
 - mortalita kolem 5%, více jsou ohroženi nezralí novorozenci
- pozdní infekce
 - většinou sérotyp III.
 - dostavují se koncem 1.měs. života
 - probíhá pod obrazem sepse, meningitidy
 - smrtnost přes 10%

komplikace v šestinedělí

- endometritidy, infekce moč. cest, bakteriemie po císařském řezu vedoucí až k endokarditidě, meningitidě, k tvorbě abscesů

ostatní infekce

- osteomyelitidy – u kojenců nejčastější původce
- cystitidy, pyelonefritidy – u starších dětí, dospělých
- pneumonie, endokarditidy, artritidy, infekce ran, osteomyelitidy, vzácné meningitidy – u imunokompromitovaných

lčba

- ampicilin (1. volba)
- citlivý na penicilin
- u alergie cefalosporiny, linkomycin, vankomycin

3) Ostatní beta-hemolytické streptokoky

- Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimillis - hlavně **faryngitidy** a **tonsilitidy**; u disponovaných jedinců může vyvolat sepse, nekrotizující záněty fascií, pneumonie, epiglotitidy, meningitidy, mozkové abscesy, osteomyelitidy, artritidy
- Streptococcus equi ssp. zooepidemicus - **mastitidy skotu**, u lidí hlavně **faryngitidy**
- Streptococcus canis - patogen psů, u člověka byly popsány **sepse** a **meningitidy**

- Streptococcus porcinus - **infekce urogenitálního traktu**, řídce infekce kolem porodu
- Streptococcus iniae - **seps** u osob zpracovávajících kontaminované ryby
- Streptococcus anginosus - **infekce urogenitálního traktu, infekce GIT, faryngitidy, mozkové/jaterní abscesy, artritidy**

4) S. pneumoniae (non-hemolytické)

pneumokoková pneumonie

- nejčastější původce komunitní pneumonie
- může proběhnout jako lobární (postižen celý plicní lalok), nebo ložisková (bronchopneumonie)
- pneumokoky se běžně vyskytují v nosohltanu asi 10% zdravých jedinců
- u dětí nebo starších osob často končí smrtí; letalita u případů s bakteriemií dosahuje 25%
- začátek je obvykle náhlý – třesavka, zimnice, vysoká horečka
- pacient je dušný, zchvácený, bolest na hrudníku při inspiriu, tachykardie, tachypnoe
- starší nemocní mohou být i afebrilní
- kašel je zprvu suchý, po několika dnech produktivní s expektorací sputa

purulentní (hnisavá) meningitida

- pneumokok je nejčastější příčinou meningitidy u starších osob a malých dětí
- primární meningitida začíná náhle z plného zdraví
- dostavuje se typický **meningeální syndrom** - horečka, bolest hlavy, nauzea, zvracení, fotofobie, meningeální příznaky
- sekundární meningitida může mít pomalejší nástup
- většina pacientů má v anamnéze čerstvě prodělané respir. onemocnění
- průběh je velmi rychlý, zanechává trvalé následky nebo končí smrtí

otitida

- horečky a bolest ucha, která během několika hodin zesílí a stává se nesnesitelnou
- úlevu přináší paracentéza (propíchnutí bubínku), nebo jeho spontánní perforace
- komplikace – hluchota, mastoiditida (z té může vzniknout meningitida)

další infekce

- sinusitida, rhinitis purulenta (hnisavá rýma po předešlé virové infekci)
- k méně častým patří akutní endokarditida, peritonitida, septická artritida, infekce v malé pánvi u žen
- pneumokokové seps se vyskytují u asplenie a infekce HIV

léčba

- penicilin (lék volby), případně vyšší dávky amoxicilinu
- u meningitid – penicilin, ampicilin, ceftriaxon, cefotaxim, chloramfenikol
- v případě rezistence na penicilin – cefalosporiny III. gen, event. v kombinaci s vankomycinem
- otitis media - amoxicilin

5) Ústní streptokoky (viridující non-hemolytické)

- oportunní patogeny, uplatňují se jen u disponovaných jedinců
- druhy:
 - skupina *S. mutans*: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. downei*,
 - skupina *S. salivarius*: *S. salivarius*, *S. vestibularis*
 - skupina *S. sanguinis*: *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. parasanguinis*
 - skupina *S. mitis*: *S. mitis*, *S. oralis*, *S. peroris*

subakutní bakteriální endokarditida (sepsis lenta)

- streptokoky z dutiny ústní, zvláště při onemocněních parodontu, snadno během žvýkání pronikají do oběhu
- u zdravých jedinců jsou většinou bez problému vychytány
- jsou-li však srdeční chlopně postiženy např. revmatickou horečkou, streptokoky se usadí a začnou tvořit vegetace
- při každém tepu se z vegetací uvolňují mikroby a rozsévají se krví do celého těla
- makroorganismus není schopen vlastními silami vegetaci odstranit, bez léčby končí fatálně
- *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*

bakteriémie

- prolongovanou bakteriémií mohou vyvolat ústní streptokoky u neutropeniků (nedostatek neutrofilů) po cytotoxické léčbě, nebo u nedonošených novorozenců (vzácně i meningitida nebo pneumonie)
- *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*

zubní kaz

- skupina *S. mutans* (zvláště *S. mutans*, *S. sobrinus*)
- tvoří enzymy, které štěpí sacharosu z potravy a glukosové zbytky spojují v nerozpustné lepkavé glukany
- ty jim umožní adherovat na zubní sklovinu a jsou tak základní mezibuněčnou hmotou zubního plaku (spolu s desítkami dalších mikroorganismů)
- vznik zubního kazu – působením organických kyselin, které tvoří při štěpení sacharidů (při nepřítomnosti sacharidů v potravě syntetizují i intracelulární sacharidy, které následně štěpí)

další infekce

- novorozenecké sepse, meningitidy – především u nedonošených novorozenců
- infekce močových cest

léčba

- téměř polovina odolná vůči penicilinu a dalším beta-laktamům, běžným cefalosporinům, erytromycinu a aminoglykosidům
- citlivé na vankomycin, cefotaxim, ceftriaxon, imipenem

37. Stafylokokové infekce

1) *S. aureus* (koagulasa pozitivní)

- onemocnění vyvolaná zlatými stafylokoky:
 - hnisavá onemocnění – nejčastěji
 - infekce spojené s působením toxinů
 - intoxikace z potravin
- predispozicí je poranění, přítomnost cizích těles (implantované pomůcky, stehy) virové infekce, DM, malignity
- benigní kožní infekce jsou časté, závažné stavy s postižením vnitřních orgánů a sepsí obvykle jen u disponovaných jedinců
- sklon k tvorbě abscesů
 - ohraničená zánětlivá ložiska, zánětem vzniklá dutina plná hnisu
 - hnis je tvořen rozpadajícími se leukocyty a bakteriemi; je smetanově žlutý a nepáchne
 - nekrotické centrum abscesu je obklopeno relativně bezcévnou stěnou z fibrinu a fibroblastů, okolní tkáň je zanícená (rubor, calor, tumor, dolor, functio laesa)
- zhruba 1/3 lidí jsou bezpříznakovými nosiči (nozdry, hráz, axila, vulva)

hnisavé (purulentní) onemocnění kůže a adnex

- impetigo - povrchové puchýře v epidermis, vyplněné žlutým hnisem (=pustuly), s žlutohnědou krustou na povrchu; typicky u malých dětí
- ecthyma - velké vředovité pustuly zasahující až do dermis
- folliculitis - hnisavá infekce vlasového folikulu, která začíná v mazové žláze a projevuje se jako žlutavá pustulka se zarudlým okolím
- furunculus (furunkl) - kožní absces vzniklý rozšířením zánětu folikulu do sousední škáry
- carbunculus - rozsáhlé hnisavé ložisko, které vzniká splynutím několika furunklů, vznikají mnohočetné abscesy; zejména na šíji
- sycosis barbae - chronická splývající folikulitida ve vousaté části obličeje
- hordeolum (ječné zrna) - zánět Zeisovy mazové žlázy na okraji víčka
- blepharitis - zánět víčka spojený většinou s hnisavým zánětem spojivky (conjunctivitis)
- mastitis - zánět mléčné žlázy u kojících žen
- hidradenitis suppurativa - hnisavý zánět potních žláz, zejm. v axile

hnisání ran

- zlatý stafylokok je vůbec nejčastějším původcem hnisání ran
- postihuje povrchová zranění, popáleniny, pooperační rány
- ke vzniku infekce je potřeba, aby s místě rány zůstalo **cizí těleso** (tříska, špína, stehy, apod.)
- zahnízaná rána se **hojí per secundam** – po vyhnisání se vyplní granulační tkání, zůstává po ní nepravidelná jizva
- z rány může pronikat do regionálních uzlin (lymphadenitis), a z nich do krevního oběhu (bakteriémie), to může vést až ke sepsi

infekce vnitřních orgánů

- abscesy vnitřních orgánů – po diseminaci krví do vnitřních orgánů
- empyém – tělesná dutina vyplněna hnisem (např. empyém pohrudniční dutiny),
- endokarditida
 - vznik vegetací na srdečních chlopních (infikovaný trombus)
 - může postihnout i intaktní chlopně, často se vyskytuje u i.v. narkomanů
 - probíhá jako akutní onemocnění s vysokými horečkami a projevy sepsy
 - komplikací je embolizace septických embolů a vznik metastatických abscesů v kůži, plicích, mozku, ledvinách
- osteomyelitis – zánět kostní dřeně, může vzniknout jak hematogenně, tak po úrazu. U dětí postihuje metafýzy dlouhých kostí, u dospělých spíše obratle.
- hnisavá artritida – komplikace osteomyelitidy v blízkosti kloubů

respirační infekce

- sinusitidy – akutní záněty vedlejších nosních dutin, poměrně běžné
- bronchopneumonie
 - nasedající na infekci virem chřipky – virová infekce zastavuje pohyb řasinek, což napomáhá vzniku a množení stafylokoků v bronších
 - pneumonie jsou často provázeny rozpadem tkáně, vznikem abscesu, nebo rozvojem empyému

infekce spojené s působením toxinů

- syndrom toxického šoku (TSS)
 - způsobují kmeny množící se v ráně, nebo v pochvě ucpané vysoce nasáklým tamponem a produkující TSST-1.
 - jde o fatální febrilní stav, který rychle vede k hypotenzi, dermatitidě, křečím, bezvědomí a multiorgánovému selhání
- enterokolitida – při léčbě širokospektrými ATB, kdy se může přemnožit *S. aureus*, tvořící enterotoxin B
- exfoliativní dermatitida (Ritterův syndrom, stafylokokový syndrom opárené kůže – SSSS)
 - způsobena kmeny tvořící toxin exfoliatin
 - nejčastěji u dětských stafylokokových infekcí nazofaryngu nebo kůže, postihuje celé tělo.
 - syndrom je charakterizován intraepidermálními puchýři v granulární vrstvě, tekutina v puchýřích je sterilní
 - vede k částečné nebo úplné ztrátě kůže – dochází k uvolnění pokožky od škáry, pokožka se odlučuje v bělavých cérech a ponechává obnaženou jasně červenou dermis

intoxikace

- stafylokoková enterotoxikóza
 - intoxikace, nikoli infekce
 - velmi častá otrava z potravin (sekaná, bramborový salát, krémové zákusky, zmrzlina), které jsou kontaminovány zlatým stafylokokem, produkujícím termostabilní enterotoxiny
 - stafylokok může být varem zničen, ale enterotoxin nikoli

- enterotoxiny vedou stimulací viscerální peristaltiky k průjmům a iritací emetického centra ke zvracení (často obojí současně)
- rozvoj příznaků náhle, 1-6 hod po požití jídla s toxinem (stafylokoky již ani nemusí být v jídle přítomné)
- samovolné uzdravení, v kl. obraze bez výraznějších morfologických změn
- hlavním rizikem je dehydratace a iontová dysbalance

léčba

- u lokalizovaných infekcí – chirurgická léčba – otevření abscesu, vypuštění hnisu, odstranit případné cizí těleso a postarat se o drenáž (aby mohl hnis i nadále odtékat)
- ATB: přes 90% kmenů je dnes na penicilin rezistentních, protože získaly plasmid kódující schopnost tvořit penicilinasu
- většina komunitních kmenů je ještě stále citlivá na polosyntetické peniciliny, do jejichž molekuly byla vnesena vhodná skupina, která brání přístupu beta-laktamasy k citlivému místu na beta-laktamovém kruhu
- lék volby = oxacilin, cloxacilin (v kombinaci s ampicilinem)
- dále aminopeniciliny/inhibitory betalaktamázy; cefalosporiny I.,II. gen.
- v zahraničí oxacilinu příbuzný methicilin
- alternativně makrolidy, linkosamidy, kotrimoxazol, aminoglykosidy, chinolony - většina našich kmenů na ně zůstává citlivých
- mupirocin – lokální ATB, k léčbě ohraničených kožních infekcí a odstranění nosního nosičství
- MRSA – glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin), dále linezolid, tigecyclin

2) Koagulasa negativní stafylokoky

- **oportunní patogeny**, tvoří hlavní část normální mikroflóry kůže a sliznic člověka
- zástupci: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis ssp. hominis*, *S. hominis ssp. novnobiosepticus*
- u normálního hostitele vyvolávají infekci jen vzácně
- **predispozice** mají hlavně **intravenózní narkomani** (typicky závislí na heroinu), **imunokompromitovaní jedinci** a **nemocní se zavedenými nebo implantovanými pomůckami** (flexily, umělé srdeční chlopně, kardiostimulátory, shunt, močové katetry, kloubní protézy, šrouby, fixační pomůcky, ...)
- snadno adherují na cizí povrchy a rostou na nich v podobě **biofilmu** - odolávají nejen fagocytóze, ale i ATB léčbě
- obecně jsou infekce koagulasa-negativních stafylokoků převážně nozokomiální

infekce

- nejčastěji infekce spojené se zavedenými nebo implantovanými pomůckami
- infekce krevního řečiště, projevující se **bakteriemií**
 - nejčastější příčinou přítomnosti KNS v krvi jsou infikované intravenózní katetry
 - každá kolonizace katétru KNS se nemusí projevit příznaky, ale může dojít až ke katetrové sepsi s příznaky šoku a mortalitou 33%

- endokarditida
 - stafylokoková infekce nativních chlopní je poměrně vzácná
 - častěji u narkomanů (intravenózní heroin poškozuje trojčípou chlopeň) nebo u umělých srdečních chlopní
- infekce likvorových spojek – projeví se jako meningitida, nebo zhoršená funkce shuntů
- infekce cévních štěpů – bývá po měsíce až léta indolentní
- infekce kloubních protéz, osteomyelitidy (spojené se zavedenými šrouby)
- peritonitidy – v souvislosti s peritoneálními dialyzačními katétry
- dále infekce kardiostimulátorů, silikonových prsních implantátů, penilních protéz
- bakteriémie u novorozenců a neutropenií, infekce operačních ran, občas průkaz v mozkových abscesech, sternální osteomyelitida po kardiochirurgických operacích,
- infekce močového traktu – *S. saprophyticus* u mladých sexuálně aktivních žen; ostatní KNS spíše u starších osob s močovým katétrem

léčba

- poměrně rezistentní na běžné protistafylokokové ATB jako oxacilin (dána genem *mecA*), erythromycin, klindamycin, tetracykliny, gentamicin + zvyšuje se rezistence i na co-trimoxazol a fluorochinolony
- zatím citlivé na vankomycin, rifampicin

38. Bakteriální původci sepsí

Základní termíny

- bakteriální infekce: nefyziologická interakce mezi bakterií a makroorganismem zahrnující laboratorní a klinické známky onemocnění, včetně anatomických změn na úrovni buněk
- bakteriemie: přítomnost bakterií v krvi, může být klinicky významná (septický stav) nebo klinicky nevýznamná
- seps: systémová zánětlivá odpověď
- těžká seps, septický šok: následné fáze seps charakterizované orgánovou dysfunkcí, hypoperfuzí a hypotenzí

Seps

- seps je život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená nepřiměřenou odpovědí organismu na infekci
- SIRS = systémová zánětlivá odpověď organismu (seps je SIRS vzniklá v důsledku infekce)
 - kritéria SIRS
 - teplota nad 38°C nebo pod 36°C
 - tep nad 90/min
 - dechová frekvence nad 20/min nebo CO₂ pod 32 mmHg
 - leukocyty nad 12 tis./μl nebo pod 4 tis./μl
- při sepsi se dostává velké množství virulentních bakterií a jejich produktů do krve. Indukují tzv. cytokinovou bouři - produkci velkých množství zánětlivých cytokinů (zejm. IL-1 a TNF) a jejich působení v cirkulující krvi.
- to může dospět k aktivaci koagulační kaskády s rozvojem diseminované intravaskulární koagulace (DIC), ke vzniku hypotenze a šoku.
- pokud situace není zvládnuta, přechází stav v tzv. septický šok, který je charakterizovaný hypoperfuzí orgánů - hypoxémií se selháváním jednoho i více orgánů:
 - akutní selhání ledvin
 - selhání plicních funkcí - rozvoj difúzního alveolárního poškození, které se klinicky projevuje jako ARDS
 - encefalopatie
 - poruchy perfuze části GIT (hlavně střev) se zvýšenou permeabilitou pro bakterie a jejich produkty, což může vést ke vzniku ileu či vředu,
 - dále akutní pankreatitida, akalkulózní cholecystitida, poruchy funkce jater
- = rozvíjí se syndrom multiorgánové dysfunkce - MODS.

Hlavní zásady léčby seps

- Odstranění zdroje seps - zahrnuje drenáž abscesů, empyému, nekrektomie, odstranění cizích těles (mj. i žilních katetrů), vynětí orgánu prostoupeného infekcí, vyřazení postižené oblasti z funkce (kolostomie).
- Léčba infekce - vhodná ATB léčba
- Léčba oběhových změn (masivní volumoterapie se zachováním perfuze orgánů)
- Léčba respiračního selhání (ventilační podpora)
- Další léčba - profylaxe stresových vředů H₂-blokátory, výživa, profylaxe trombóz

Sepse – z přednášky

- sepsa patří k nejzávažnějším infekčním onemocněním a nadále představuje velký terapeutický problém.
- sepsi lze definovat jako systémovou zánětlivou odpověď na infekci, která může být vyvolána různými druhy mikroorganismů (např. bakteriemi a kvasinkami).
- Zvyšuje se počet invazivních výkonů terapeutických i diagnostických, které výrazně ovlivňují přímo či nepřímo lidskou bakteriální mikroflóru vystavením pacientů nemocničnímu prostředí s mnoha zdroji multirezistentních bakterií, přímými zásahy do systémů s přirozenou mikroflórou a selekčním tlaku antibiotik.
 - například rozsáhlé a život zachraňující výkony v kolorektální chirurgii mohou být, a v řadě případů jsou, komplikovány vznikem nozokomiální infekce s rozvojem sepsy, například z důvodu rozpadu anastomózy,
 - stoupající počet pacientů s umělou plicní ventilací rovněž zvyšuje riziko vzniku závažné ventilátorové pneumonie s následnou sepsí.
- na rozdíl od jiných nemocí je charakterizována stoupající incidencí a počtem úmrtí.
- letalita dosahuje v průměru 30 % a celkové náklady na léčbu těžké sepsy v rozvinutých zemích přesahují 25 miliard EUR ročně.
- progresse do stadia těžké sepsy je na JIP zaznamenána u každého čtvrtého pacienta se sepsí.
- počet úmrtí se za posledních 20 let zdvojnásobil a v současnosti přesahuje počet úmrtí spojený s akutním infarktem myokardu nebo některými nádorovými chorobami, například s karcinomem tlustého střeva a prsu.

Pohled mikrobiologa na antibiotickou léčbu sepsy zahrnuje:

- časování antibiotické léčby
- výběr adekvátní antibioterapie
- dávkování antimikrobních přípravků
- možnosti stanovení etiologického agens a jeho vlastností, včetně PK/PD parametrů

Etiologie:

- na etiologii se podílí gramnegativní i grampozitivní bakterie, přičemž četnost jednotlivých bakteriálních druhů je podmíněna základní lokalizací infekce.
- K nejčastějším zdrojům patří pneumonie, intraabdominální infekce a uroinfekce, které současně představují nozokomiální infekce s nejvyšší frekvencí výskytu.
- Sepsa však může být asociována i s komunitními infekcemi (např. pneumoniemi, infekcemi měkkých tkání a gastrointestinálními infekcemi).
- V etiopatogenezi sepsí se mohou uplatnit i bakterie s produkcí tzv. superantigenů (např. TSST-1 nebo streptokokový pyrogenní exotoxin).
- V diferenciálně diagnostické rozvaze o etiologii sepsy u konkrétního pacienta je nutné zhodnotit příčinu sepsy, resp. stanovit primární infekci, pokud je to možné.
- V případě určení základního zdroje sepsy lze s větší pravděpodobností předpokládat etiologické agens na základě znalosti nejčastějších bakteriálních původců příslušných infekcí.
- Adekvátní antibiotická léčba je v současné době podmíněna především frekvencí bakteriálních patogenů a vývojem jejich rezistence k antimikrobním přípravkům

Nejčastější bakteriální původci vybraných nozokomiálních a komunitních infekcí v souvislosti s rozvojem sepse

Nozokomiální infekce	
pneumonie	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
intraabdominální infekce	anaerobní bakterie, <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , enterokoky
uroinfekce	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , enterokoky
katéetrové infekce	<i>Staphylococcus</i> sp. (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i>), enterobakterie, enterokoky
Komunitní infekce	
infekce horních cest dýchacích (tonsilitidy, faryngitidy, sinusitidy)	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
pneumonie	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
infekce močových cest	především <i>Escherichia coli</i> méně často: <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i>
kožní infekce	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>
infekce genitálního traktu	anaerobní bakterie, <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , enterokoky
infekce CNS	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>

Zásady ATB terapie:

- Nelze definovat univerzální schéma antibiotické léčby sepsí a tato je většinou zpočátku necílená, bez konkrétní znalosti etiologického agens a jeho citlivosti.
- Důležitou součástí komplexní terapie je včas zahájený antibiotický režim, a proto není možné čekat na výsledek mikrobiologického kultivačního vyšetření, včetně stanovení citlivosti/rezistence patogenní bakterie k antimikrobním přípravkům.
- Přesto lze zvolit na základě znalosti nejčastějších bakteriálních původců sepsí a jejich rezistence k antibiotikům optimální léčebný postup.
- Současně je velmi důležité zhodnotit primární infekci, pokud je přítomna, a výsledky předcházejících mikrobiologických vyšetření.

Antibiotická léčba / klinický stav	Režim antibiotické léčby
iniciální antibioterapie	imipenem (+ gentamicin)* meropenem (+ gentamicin)* piperacilin-tazobaktam (+ gentamicin)* <i>* kombinace s gentamicinem je vhodná, pokud k rozvoji sepse dojde po více jak 48 hodinách od začátku hospitalizace</i>
klinické a laboratorní markery infekce jsou zlepšeny v průběhu 72 hodin po zahájení iniciální antibioterapie	<u>patogen nezjištěn:</u> antimikrobní přípravky ponechat beze změny <u>patogen zjištěn:</u> antimikrobní přípravky aplikovat cíleně dle citlivosti (deeskalační antibiotická léčba)
klinické a laboratorní markery infekce bez odpovědi i po 72 hodin od počátku iniciální antibioterapie	zvážit etiologickou roli grampozitivních bakterií, hlavně methicilin-rezistentních stafylokoků a přidat vankomycin/teikoplanin/linezolid, event vysadit gentamicin v indikovaných případech zvážit přítomnost kvasinek či plísní a nasadit odpovídající antimykotickou léčbu - flukonazol/vorikonazol, event. amfotericin B na lipidovém nosiči nebo echinokandin (kaspofungin/anidulafungin/mikafungin)

Nozokomiální infekce

pneumonie	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<u>časná pneumonie</u> amoxicilin/kys. klavulanová + gentamicin ampicilin/sulbaktam + gentamicin <u>pozdní pneumonie:</u> imipenem + gentamicin meropenem + gentamicin piperacilin-tazobaktam + gentamicin ceftazidim + gentamicin
intraabdominální infekce	anaerobní bakterie, <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , enterokoky	imipenem + gentamicin meropenem + gentamicin piperacilin-tazobaktam + gentamicin (+ metronidazol) ampicilin/sulbaktam + gentamicin + metronidazol amoxicilin/kys. klavulanová + gentamicin + metronidazol
uroinfekce	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , enterokoky	ampicilin/sulbaktam + gentamicin amoxicilin/kys. klavulanová + gentamicin piperacilin-tazobaktam + gentamicin
katéetrové infekce	<i>Staphylococcus sp.</i> (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i>), enterobakterie, enterokoky	gentamicin + ampicilin/sulbaktam* gentamicin + amoxicilin/kys. klavulanová* * v případě methicilin/oxacilin-rezistentních stafylokoků nebo ampicilin-rezistentních enterokoků je nutná aplikace <u>vankomycinu, teikoplaninu nebo linezolidu</u>

Komunitní infekce

infekce horních cest dýchacích (tonsilitidy, faryngitidy, sinusitidy)	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	megadávky penicilinu G ampicilin/sulbaktam amoxicilin/kys. klavulanová cefotaxim
pneumonie	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	cefotaxim + klaritromycin* cefotaxim + moxifloxacin* ampicilin/sulbaktam + klaritromycin* amoxicilin/kys. klavulanová + klaritromycin* * po vyloučení případné etiologické role atypických bakterií (<i>Ch. pneumoniae</i> , <i>M. pneumoniae</i>) aplikaci klaritromycinu nebo moxifloxacinu ukončit
infekce močových cest	především <i>Escherichia coli</i> méně často: <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i>	ampicilin/sulbaktam + gentamicin amoxicilin/kys. klavulanová + gentamicin piperacilin/tazobaktam
kožní infekce	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>	megadávky penicilinu G + klindamycin ampicilin/sulbaktam + gentamicin amoxicilin/kys. klavulanová + gentamicin
infekce genitálního traktu	anaerobní bakterie, <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , enterokoky	ampicilin/sulbaktam + gentamicin (+ metronidazol) amoxicilin/kys. klavulanová + gentamicin (+ metronidazol) piperacilin/tazobaktam + metronidazol megadávky penicilinu G + klindamycin
infekce CNS	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>	

Streptococcus pyogenes (G+)

- vysoké nebezpečí vzniku sepse hlavně **u hlubokých streptokokových infekcí** (zánět fascií, epifasciálně uložená flegmóna, subfasciální zánět svalů, pneumonie, meningitidy) + způsobuje **poporodní sepse** (streptokoky zavedené rukama porodníka do porodního kanálu se dostanou do dělohy a ranou po odloučené placentě dále do krve)
- bakteriémie často provází **syndrom podobný toxickému šoku** (syndrom streptokokového toxického šoku) - vyznačuje se zánětem měkkých tkání a nápadnou bolestivostí v místě infekce, horečkou, nauzeou, průjmy a příznaky šoku
- léčba - penicilin, případně makrolidy

Streptococcus agalactiae (G+)

- nejdůležitější původce novorozeneckých sepsí a meningitid - **časná infekce novorozenců** (bakteriémie, pneumonie, meningitida, sepse), **pozdní infekce novorozenců** (meningitida, sepse)
- léčba - lékem volby je ampicilin, citlivé k penicilinu

Orální streptokoky (G+)

- uplatňují se jako patogeny jen u disponovaných jedinců
- mohou vyvolat **prolongovanou bakteriémii u neutropeniků** po cytotoxické léčbě nebo **u nedonošených novorozenců** - nejčastěji způsobeno Streptococcus mitis, S. oralis, S. salivatorius, S. sanguinis, S. gordonii
- při onemocnění parodontu se žvýkáním dostanou do oběhu a mohou se usazovat na chlopních (zvláště při jejich předešlém poškození, např. revmatickou horečkou) → tvoří vegetace, při každém tepu se uvolňují do krve a do celého organismu; makroorganismus není schopen sám vegetace odstranit, stav se označuje **loudavá sepse (sepsis lenta)**
- léčba - cefotaxim, ceftriaxon, imipenem, vankomycin (*rezistentní vůči penicilinu, cefalosporinům, erytromycinu, aminoglykosidům; rezistence v posledních letech stoupá*)

Staphylococcus aureus (G+)

- zlatý stafylokok je vůbec nejčastějším původcem **hnisání ran** - postihuje povrchová zranění, popáleniny i pooperační rány (ke vzniku infekce je potřeba přítomnost cizího tělesa); z rány mohou bakterie pronikat do krve a způsobit sepsi
- sepse může vzniknout i při infekcích vnitřních orgánů - např. **akutní endokarditida** (vegetace na chlopních)
- léčba - polosyntetické peniciliny (oxacilin, cloxacilin (+ ampicilin), methicilin), makrolidy, linkosamidy, chinolony, ...

Koagulasa-negativní stafylokoky (G+)

- Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus hominis, ...
- u normálního hostitele vyvolají infekci jen vzácně
- predispozice mají hlavně intravenózní narkomani, imunokompromitovaní jedinci a nemocní se zavedenými nebo implantovanými pomůckami (flexily, umělé srdeční chlopně, kardiostimulátory, shunt, močové katetry, kloubní protézy, ...) → snadno adherují na cizí povrchy a rostou ve formě biofilmu, z biofilmu se mohou uvolňovat do krve!

- nejčastějšími infekcemi jsou **infekce spojené se zavedenými pomůckami**, především **infekce intravenózních katetrů** - může dojít ke **katetrové sepsi** s příznaky septického šoku a mortalitou až 33%
- obecně jsou infekce koagulas-negativních stafylokoků převážně nozokomiální
- léčba - rifampicin, vankomycin; *poměrně rezistentní na běžné protistafylokokové ATB*

Neisseria meningitis (G-)

- může způsobovat neinvazivně faryngitidu nebo invazivně **seps**e a meningitidy (vzácněji pneumonie)
- infekce je výsledkem souhry mnoha faktorů - na rozvoji se podílí faktory virulence, stav imunity, aktuální fyzický stav jedince a narušení dýchací sliznice (kouřením, virovou infekcí); *až 10% lidí je bezpříznakovými nosiči ve faryngu*
- nejčastěji postihuje dospívající a mladé dospělé
- fatálním je periferní cirkulační kolaps: **Waterhous-Friderichsenův syndrom** - závažný stav charakterizován šokem, diseminovanou intravaskulární koagulací, kožními lézemi, bilaterálními adrenálními hemoragiemi a sepsí
 - **klinický obraz**: bolest v boku/epigastriu/břiše, zimnice, malátnost, bolest hlavy, nauzea, zvracení
→ o několik hodin později hypotenze, petechiální léze na kůži a sliznicích; adrenální hemoragie je relativně vzácná
- léčba - penicilin; na prvním místě je obnova normálního fungování krevního řečiště a metabolismu

39. Bakteriální původci typických a atypických pneumonií

- **pneumonie** neboli **zápal plic** je akutně nebo chronicky probíhající zánět plicního parenchymu
- obvykle začíná infektem horních cest dýchacích, odkud se šíří do bronchů a alveolů, hematogenní rozsev je vzácnější
- většinou jde o **akutní zánět bronchiolů, alveolárních prostor a intersticia**
- patří mezi nejčastější zánětlivá onemocnění vůbec, celosvětově jde o třetí nejčastější příčinu smrti

Epidemiologie

- vyskytují se zvláště často v prvním roce života
- v ČR každoročně 80 - 150 tisíc případů s letalitou 10 - 20%
- riziko smrti zvyšuje vyšší věk, polymorbidita, rezistentní agens, AIDS, drogová závislost, apod.
- přenáší se **kapénkovou infekcí**

Klasifikace pneumonií

a) podle etiologie

- infekční - bakteriální, virové, mykotické, parazitární
- neinfekční - postradiační, polékové, alergické, plicní fibrózy

b) podle rozsahu

- alární - postiženo celé plicní křídlo – tedy celou jednu plíci (krupózní)
- lobární - postižen jeden lalok plíce (krupózní)
- segmentální - postižení segmentu plíce (krupózní)
- ložiskový – ložiska jsou rozseta obvykle podél větvení bronchů (bronchopneumonie)

c) podle charakteru zánětu

- katarální (bronchopneumonie)
- katarálně hnisavý (bronchopneumonie)
- fibrinózní (krupózní pneumonie)
- specifický (TBC)

d) podle epidemiologie

- komunitní - nejčastější typ (až 90%), získané v běžném prostředí populace u nehospitalizovaných pacientů, kteří jsou většinou zdraví bez imunitního defektu; léčí se většinou ambulantně
- nozokomiální - časná (rozvíjí se za více než 48 hodin po přijetí do nemocnice), pozdní (po 4 dnech v nemocnici); vyskytují se často u imunokompromitovaných pacientů (HIV pozitivní, léčení cytostatiky nebo imunosupresivy, po ozařování, po transplantaci); nemocniční kmeny jsou často rezistentní k řadě ATB. Riziko zvyšuje dlouhodobý pobyt na lůžku, umělá plicní ventilace, komorbidita a imunosuprese.

e) podle lokalizace zánětlivého exsudátu

- povrchové – exsudát lokalizován v alveolech, nejčastější typ (bronchopneumonie, krupózní); odpovídá „typické pneumonii“
- hluboké (intersticiální) – exsudát je lokalizován v intersticiu, původci jsou intracelulární parazité; odpovídá „atypické pneumonii“

Klinický obraz

1) Povrchové pneumonie („typické“)

Bronchopneumonie

- důsledek šíření zánětu z bronchů do alveolárních prostorů plicního parenchymu.
- změny ložiskového charakteru - ložiska zánětu jsou rozprostřena podél větvení bronchů, tvar a rozsah ložisek odpovídá plicním lalůčkům.
- MA:
 - výrazné prosáknutí a překrvení plicní tkáně, která je méně vzdušná
 - nepravidelně rozmístěná šedožlutá/šedočervená nevzdušná ložiska (cca 1mm), nejčastěji v zadních částech dolních laloků
 - po zatlačení na plicní tkáň se v oblasti zánětem postižených bronchiolách většinou objeví kapénky hnisu
- MI: exsudát různého charakteru (serózní, fibrinový, až hnisavý). Strukturální ohraničení sklípků zůstává nezměněno
- indurativní pneumonie (karnifikace plic): u déletrvající bronchopneumonie je možné zaznamenat známky probíhající organizace nevstřebaného, především fibrinového exsudátu, který je nahrazován granulační tkání a vytváří zátkovité formace uvnitř alveolů
- etiologie - infekční
 - infekce streptokoků, stafylokoků, Haemophilus influenzae, klebsiely
 - bakteriální infekce často přidružená k virové infekci (např. chřipka) nebo komplikuje jinou probíhající základní chorobu (zejm. u dětí a starých lidí)
- etiologie a patogeneze
 - adnatní pneumonie: u novorozence do 48 hod po narození, někdy v souvislosti s aspirací infikované plodové vody
 - aspirační pneumonie: následek aspirace žaludečního obsahu, jehož zbytky lze identifikovat v alveolech
 - pooperační: po těžkých chirurgických zákrocích provázených dlouhou narkózou a event. v souvislosti s útlumem reflexního kašle
 - bronchostenotická: rozvine se za překážkou zužující bronchiální lumen
 - kolapsová: komplikace kolapsu plicní tkáně, u které je sníženo provzdušňování
 - hypostatická: u dlouho ležících pacientů s oběhovou nedostatečností v místech hypostázy
- běžnou komplikací je přestup zánětu na pleuru, event. vznik abscesů v plicním parenchymu; může se vyvinout i septický stav

Krupózní pneumonie

- hromadění exsudátu bohatého fibrinem v nitrech alveolů, postihuje typicky celý plicní lalok (lobární pneumonie), případně celé křídlo plicní (alární pneumonie)
- agens *Streptococcus pneumoniae*, příp. *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, stafylokoky a streptokoky
- nepředchází mu zánět bronchů (na rozdíl od bronchopneumonie)
- predispozice:
 - snížená rezistence organismu (imunodeficity, intoxikace, alkoholismus)
 - hypersekrece a stagnace hlenu (chrání pneumokoky proti fagocytóze)
 - edém plic
 - poranění hrudníku
- klinický obraz:
 - onemocnění začíná z plného zdraví, horečky, bolesti na hrudníku, kašel, dušnost
 - rovnoměrné postižení celého plicního laloku, který je konsolidován
 - provázena fibrinózní pleuritidou a bronchopulmonální lymfadenitidou
- probíhá ve 4 stádiích (dle makroskopických změn, před zavedením ATB vznikaly v plicní tkáni typické patomorfologické změny):
 - **1. stadium zánětlivé kongesce = zánětlivého edému**
 - během prvních 24 hod
 - plíce výrazně překrvená, na řezu vlhká, (vytéká z něj zpěněná tekutina)
 - MI: dilatace kapilár se serózní exsudací do sklípků (alveolární edém), edematózní i stěny alveolů (intersticiální edém)
 - exsudát chudý bílkovinami
 - **2. stadium červené hepatizace**
 - vývin změn do 48 hod
 - plicní tkáň tuhá, nevzdušná, na řezu má zřetelně červenou barvu (připomíná jaterní tkáň)
 - MI: přetrvává dilatace kapilár, alveolární prostory obsahují hustou síť fibrinu s četnými neutrofily
 - **3. stadium šedé hepatizace**
 - plicní tkáň nevzdušná a šedá. Změnu barvy vyvolala anemizace tkáně – stlačením kapilár v alveolárních septech velkým množstvím fibrinového exsudátu nahromaděného v alveolech
 - **4. stadium rezoluce**
 - 8.–9. den, pouze v případě vytvoření protilátek
 - pacientovi se výrazně uleví, prudký pokles teploty
 - exsudát zkapalněn (enzymy neutrofilů) a resorbován do lymfatických cév
 - aktivované makrofágy - fagocytóza pneumokoků a složek exsudátu, spolu s neutrofily uvolňují proteázy s fibrinolytickým účinkem – rozpuštění polymerovaného fibrinu
 - nezkapalněné části vykašlávány spolu se zkapalněným exsudátem, za příznivých podmínek postupně kompletní vyčištění alveolů a obnovení původních alveolárních prostor (narušená výstelka regeneruje, zhojení ad integrum)
 - v některých případech není exsudát odstraněn úplně (např. když lymfatika nedostatečně drainují bílkovinami bohatý exsudát) a je pak organizován nespecifickou granulační tkání, která vyplňuje alveoly a postižený úsek plíce získává konsistenci masa (tzv. karnifikace)

- komplikace:
 - pleuritida, někdy se vznikem empyému
 - abscesy, dochází k destrukci plicní tkáně, hojení jizvením
 - indurativní pneumonie s následnou alveolární plicní fibrózou – při nedostatečné fibrinolýze
 - bakteriémie s následnou bakteriální endokarditidou nebo se vznikem metastatických abscesů ve vzdálených orgánech (např. mozek)
 - respirační a oběhové selhávání: zvětšení odporu plicního řečiště, zvláště při karnifikaci (vznik cor pulmonale chronicum)

Klinický obraz specifický pro jednotlivá agens:

- **Pneumokoková pneumonie (obraz krupózní pneumonie)**
 - typická pro lidi v mladém a středním věku
 - často spojena s infekcí předem alterovaných respiračních cest – většinou nasedá na virovou infekci (např. chřipku) – hustý bronchiální sekret stimulovaný virovou infekcí představuje vhodnou půdu pro množení pneumokoka, který běžně kolonizuje nasopharynx
 - buněčná stěna pneumokoka poskytuje ochranu proti fagocytóze alveolárními makrofágy
 - klinicky začíná zpravidla náhle s výraznou horečkou, doprovázenou třesavkou. Často bývá sekundárně postižena pleura – bolest na hrudi. Může se objevit hemoptýza, vykašlávání rezavého sputa (zbarvení hemosiderinem, z erytrocytů z destrukce alveolárních prostor), pacient je variabilně dušný.
 - RTG – výplně alveolů v rozsáhlých oblastech plic, plíce jsou solidní, zastření je často patrné v celém laloku či segmentu.
 - v minulosti bez ATB zemřela až třetina pacientů
- **Stafylokoková pneumonie**
 - má tendenci ke vzniku plicních abscesů
 - představuje jen malou část komunitních pneumonií, velmi často však působí superinfekci resp. traktu po virových zánětech. Nozokomiální stafylokokové pneumonie jsou typické pro chronicky nemocných s intubací či po aspiraci
- **Klebsielová pneumonie**
 - klebsiela má poměrně silné hlenové pouzdro – hnis u tohoto typu má charakteristický hlenovitý vzhled
 - výrazná tendence k nekrotizaci a k tvorbě abscesů
 - závažnou komplikací je bronchopleurální píštěl (komunikace mezi dýchacími cestami a pleurálním prostorem)
 - jako nozokomiální nákaza je nebezpečná, i při včasné ATB terapii je mortalita poměrně vysoká
- **Pseudomonádovová infekce**
 - u lidí s cystickou fibrózou
 - charakteristicky je přítomna infekční vaskulitida, která vede k početným infarktům plic

2) Intersticiální pneumonie („atypické“)

Infekční

- etiologie: především viry, mykoplazmata, chlamydie, pneumocysty
- tzv. atypické pneumonie
 - jejichž označení bylo odvozeno od atypického klinického průběhu pneumonie vyvolané *Mycoplasma pneumoniae*
 - klinické příznaky a fyzikální vyšetření relativně nespecifické, v rozporu s pokročilým nálezem na RTG.
 - později se začalo toto označení používat pro všechny intersticiální záněty plic.
- společné histopatologické znaky:
 - edém a rozšíření alveolárních sept, kde jsou přítomny lymfoplazmocelulární infiltráty (na rozdíl od bakteriálních infekcí, kde je maximum změn uvnitř alveolu)
 - lze pozorovat i cytopatické efekty virové infekce – virové inkluze nebo vznik obrovských mnohojaderných buněk
 - poškození pneumocytů a fibrinová exsudace někdy vedou k tvorbě tzv. hyalinních blanek – eozinofilní materiál tapetující vnitřní plochu alveolů
- klinický průběh: kašel, dušnost; obvykle lehčí průběh, častá komplikace sekundární bakteriální infekcí
- většinou se hojí ad integrum, po těžším průběhu může přetrvávat postižení ve formě obliterující bronchiolitidy či destrukce bronchiolů s následnou bronchiektázií; může se rozvinout fibróza
- **Chlamydiové pneumonie**
 - *Chlamydia trachomatis*
 - u novorozenců a kojenců – chlamydie se dostanou k dítěti od matky během porodu.
 - *Chlamydia pneumoniae*
 - u starších dětí – přenos je kapénkový
 - infekce jsou běžné, časté v kolektivech mladých lidí, většinou lehký průběh
 - přenos kapénkovou infekcí nebo přímým kontaktem
 - *Chlamydia psittaci*
 - původce psitakózy (papouščí nemoc)
 - zvířecí patogen přenosný na člověka, může být v peří, exkrementech
 - infekce vstupuje do organismu vdechnutím prachu kontaminovaného ptáčími exkrementy.
 - projevy: vysoká horečka, zchvácenost, bolesti hlavy, svalů, kloubů, suchý kašel
 - v některých případech příznaky z postižení CNS, příp. příznaky systémové – hepatomegalie, splenomegalie
 - diagnostika – nejčastěji sérologická
- **Mykoplazmová pneumonie**
 - původcem je *Mycoplasma pneumoniae*
 - hlavně děti nad 5 let věku (u kojenců do 6 měsíců se neobjevuje, protože mají imunoglobuliny od matky)
 - inkubační doba dlouhá (2–3 týdny), vznik obtíží je pozvolný.
 - klinický obraz:
 - horečka (nad 39° C), kašel, bolesti hlavy, nevolnost,
 - kašel je první suchý, pak produkce sputa.
 - mohou být bolesti v krku, otitida.
 - nemoc probíhá mírně a říká se jí též „walking pneumonia“ (pacient u ní chodí).

- **Legionelová pneumonie**

- nebezpečí nákazy pro imunosuprimované jedince, kteří inhalovali aerosol kontaminovaný bakteriemi pomnoženými v systému vzduchotechniky. Nejvíce ohroženi pacienti po transplantacích
- MA: splývající bronchopneumonie s fibrinózní pleuritidou
- MI: alveolární exsudát obsahující značné množství fibrinu s příměsí neutrofilů a makrofágů
- častou komplikací je empyém
- klinicky začíná nenápadně – nevelká horečka, únavnost. Posléze se objeví suchý neproduktivní kašel a výrazná bolest na hrudi, v plicní tkáni vznikají mikroabscesy
- úmrtnost dosahuje až 20%

Rozpadové intersticiální pneumonie

- plicní absces a gangréna
 - podobně jako abscesy v jiných lokalizacích – dutina, která vznikla kolikvací původní plicní tkáně v souvislosti s akutním hnisavým zánětem, především **stafylokokovým** nebo **klebsielovým**
 - bronhogenní abscesy: vznikají v místech bronchiektázií, nebo v oblasti kde došlo k zaklínění aspirovaného infikovaného předmětu
 - abscesy hematogenního původu: při periferní pyémii, z ložiska v jiné lokalizaci (např. hnisavý zánět v kůži)
- nekrotizující záněty plic
 - v souvislosti s těžkou virovou nákazou – chřipka, spalničky, herpes, adenovirus, varicella
 - u imunosuprimovaných jedinců, např. při útlumu kostní dřeně
- gangrenózní záněty plic
 - souvisejí s aspirací potravy infikované hnilobnými bakteriemi, jako jsou **spirily**, **spirochéty**, **proteus** a jiné; mohou také vzniknout přechodem gangrenózního zánětu z okolí
 - plicní tkáň je rozpadlá, zelenavě hnědé barvy a hnilobně páchne

PARAMETR	TYPICKÁ PNEUMONIE	ATYPICKÁ PNEUMONIE
Základní charakteristika	výrazný fyzikální nález	chudý fyzikální nález
Agens	(extracelulární) <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(intra/paracelulární) <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila psittaci</i> , <i>Legionella pneumophila</i> <i>Coxiella burnetii</i> , víry – RSV, influenzy, <i>Pneumocystis carinii</i>
Nástup	náhlý	po infekci HDC, pomalý
Mimoplicní příznaky	nevýrazné	časté – bolest hlavy a svalů, zvracení, průjem
Horečka	septická febrilie	subfebrilie
Třesavka	ano	vzácně
Kašel	produktivní	suchý, dráždivý
Srdeční frekvence	možná tachykardie	norma
Pacient vypadá	nemocný	'v pohodě'
Fyzikálně	krepitus, trubicové dýchání, chrůpky	ojedinělé chrůpky
RTG	segmentální/lobární zastření (poškození alveolů)	intesticiální retikulonodulace (poškození intersticia)
Sedimentace	vysoká	mírně zvýšená
Zánětlivé parametry	vysoké	mírně zvýšené
Krevní obraz	leukocytóza	lymfocytóza
Terapie	peniciliny	makrolidy

Nejčastější bakteriální původci pneumonií

a) Komunitní pneumonie

Typické

- s vyšší četností
 - Streptococcus pneumoniae
 - Haemophilus influenzae
- s nižší četností
 - Moraxella (B) catarrhalis
 - Staphylococcus aureus
 - Klebsiella pneumoniae
 - jiné enterobakterie u dospělých pacientů

Atypické

- Chlamydophila pneumoniae
- Chlamydophila psittaci
- Mycoplasma pneumoniae
- Legionella sp.

Iniciální antibioterapie komunitních bakteriálních pneumonií

- amoxicilin
 - při neefektu je možné s vyšší pravděpodobností předpokládat atypickou etiologii pneumonie
- makrolidy, tetracykliny
 - při prokázané nebo pravděpodobné atypické etiologii pneumonie se jedná o léky I. volby tetracykliny jsou kontraindikovány u dětí do 8 let a v graviditě

Při nezlepšení klinického stavu do 3-4 dnů

- revize diagnózy z pohledu etiologického agens
- event. změna antibioterapie (např. amoxicilin změnit na klaritromycin)
- Důležitou otázkou je délka antimikrobní léčby.
- Obecně lze doporučit 7-10 denní aplikaci antibiotika
- v případě prokázané nebo pravděpodobné etiologické role *Chlamydophila pneumoniae* nebo *Mycoplasma pneumoniae* je vhodnější prodloužit antibioterapii alespoň na 14 dní.

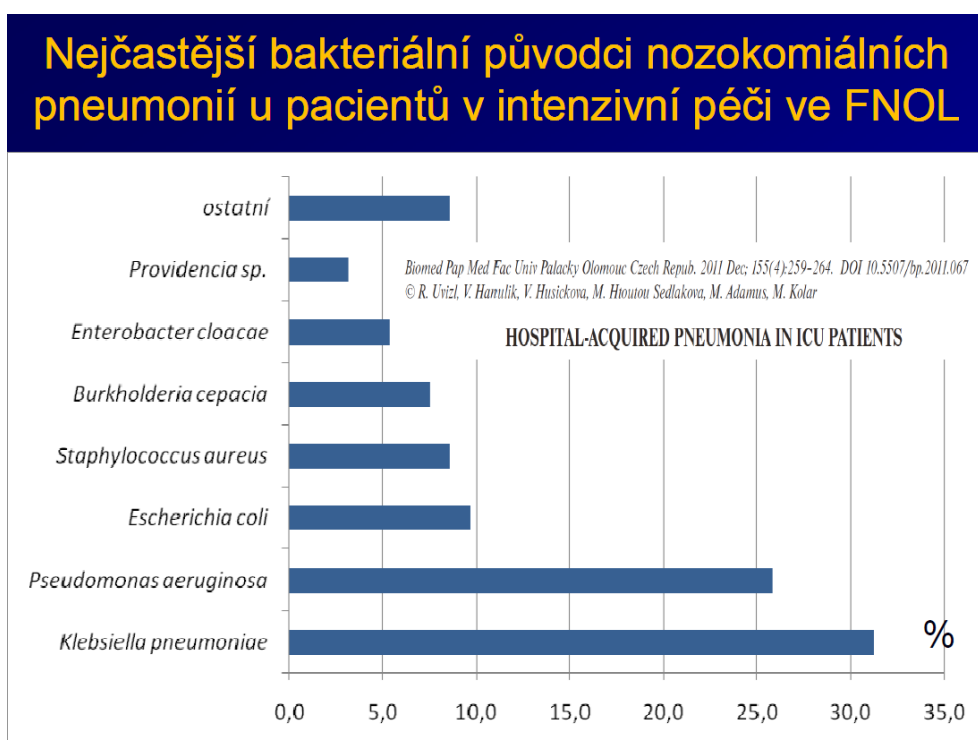
Antibiotická těžce probíhajících pneumonií komunitního charakteru, vyžadujících hospitalizaci

- Léčba komunitních pneumonií nemusí nutně vyžadovat hospitalizaci pacienta.
- V některých případech má však těžký klinický průběh, vyžadující hospitalizaci

Pneumonie/ Klinická forma	Terapie
těžce probíhající komunitní pneumonie vyžadující hospitalizaci – pacienti bez komorbidit	ampicilin 4x2 g (event. amoxicilin/kys.klavulanová 3-4x1,2 g) + klaritromycin 2x500 mg
těžce probíhající komunitní pneumonie vyžadující hospitalizaci – pacienti s komorbiditou	cefotaxim 3-4x1 + klaritromycin 2x500 mg moxifloxacin (1x400mg)

b) Nozokomiální pneumonie

- Pneumonie patří u hospitalizovaných pacientů k závažným bakteriálním onemocněním.
- Jejich incidence se u pacientů v intenzivní péči pohybuje v rozmezí 10-65 % s mortalitou vyšší než 25 % a svou četností jsou u uvedených pacientů nejčastější skupinou nozokomiálních infekcí.
- Výrazný vliv má epidemiologická situace konkrétního pracoviště, zejména u pacientů na ventilační podpoře.
- V etiopatogenezi se uplatňuje široké spektrum potenciálních bakteriálních patogenů, jako jsou
 - enterobakterie (nejčastěji *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*),
 - *Pseudomonas aeruginosa*,
 - *Acinetobacter baumannii*
 - *Staphylococcus aureus*.
- U pacientů v bezvědomí a po aspiraci je třeba počítat i s účastí anaerobních bakterií (např. *Bacteroides sp.*, *Peptostreptococcus sp.*).
- Frekvence výskytu bakteriálních původců je podmíněna, mimo jiné faktory, i délkou hospitalizace pacienta.
 - **nozokomiální časná pneumonie** (vzniká 3-4. den)
původci jsou spíše bakterie z primární bakteriální mikroflóry a tedy i citlivější (např. methicilin-citlivé kmeny *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*)
 - **nozokomiální pozdní pneumonie** (vzniká od 5. dne)
převažují spíše bakterie sekundárně kolonizující pacienta a tedy s vyšší mírou rezistence (např. kmeny *Pseudomonas aeruginosa*, enterobakterie).
 - Toto hledisko je nutné uplatňovat především u pacientů s umělou plicní ventilací.
- K nepravděpodobným původcům nozokomiálních pneumonií patří koagulázanegativní stafylokoky a viridující streptokoky.
- Rovněž etiologická role enterokoků je málo pravděpodobná.



Zásady ATB léčby nozokomiálních pneumonií

- Úspěšnost antibiotické léčby je podmíněna především:
 - adekvátností antibiotické léčby
 - včasností antibiotické léčby – antibiotikum je nutné nasadit ihned po zjištění diagnózy, v případě ventilátorových pneumonií do 1-6 hodin
 - optimálním dávkováním
- Pokud jsou k dispozici výsledky stanovení etiologického agens a jeho citlivost k antimikrobním přípravkům, je nutná cílená antibiotická léčba.

Možnosti iniciální antibiotické léčby nozokomiálních pneumonií	
Typ infekce	Antibiotická léčba
nozokomiální pneumonie časná	amoxicilin/kys.klavulanová (event. + gentamicin) ampicilin/sulbaktam (event. + gentamicin) cefuroxim (event. + gentamicin)
nozokomiální pneumonie pozdní	piperacilin/tazobaktam + gentamicin meropenem + gentamicin imipenem + gentamicin ceftazidim + gentamicin cefoperazon/sulbaktam + gentamicin tigecyklin v odůvodněných případech kolistin (parenterálně a inhalačně)

Zhodnocení účinku antibioterapie a de-eskalační terapie

- Účinek antibioterapie je nutné zhodnotit po 48 h (maximálně 72 h). V případě efektu a v souladu s mikrobiologickým vyšetřením **je vhodné realizovat de-eskalační terapii**, tedy cílenou léčbu na základě stanovení etiologického agens a jeho citlivosti k antimikrobním přípravkům.
- Pokud po nasazení léčby není efekt, je nutné komplexně znovu zhodnotit infekční diagnózu a možná etiologická agens, terapeutický přístup a upravit léčbu.
- **Celková délka antibiotické léčby se obvykle pohybuje v rozmezí 7-10 dní.** Delší antibiotická léčba výrazně zvyšuje možnost selekce rezistentních bakteriálních kmenů a je tedy riziková.

40. Anaerobní infekce

Nesporulující anaeroby

- gramnegativní tyčinky - *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Bilophila*, *Mobiluncus*, *Leptotrichia*
- gramnegativní koky - *Veillonella*
- grampozitivní tyčinky - *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*
- grampozitivní koky - *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*

Rod *Bacteroides* (*Bacteroides fragilis*)

- součást běžné mikroflóry GIT, dutiny ústní a pochvy
- **patogenita:** podílí se hlavně na infekcích v dutině břišní, malé pánvi, mediastinu, pochvě a dutině ústní
- **léčba:** rezistentní k penicilinu (tvoří beta-laktamasy), **citlivé na rifampicin**
- **léky volby:** karbapenemy (meropenem, imipenem), piperacilin/tazobaktam, tigecyklin

Rod *Fusobacterium* (*F. nucleatum*, *F. necrophorum*, *F. mortiferum*, *F. varium*)

- součást běžné mikroflóry horních cest dýchacích, GIT a pochvy
- **léčba:** karbapenemy (meropenem, imipenem), piperacilin/tazobaktam
- *F. nucleatum*
 - pleuropulmonální infekce - hrudní empyém, plicní abscesy, aspirační a nekrotizující pneumonie
 - dále mozkové abscesy, chronické sinusitidy, jaterní abscesy, intraabdominální infekce, septické artritidy, osteomyelitidy, apod.
- *F. necrophorum*
 - dovede způsobit jaterní abscesy
- *Ostatní fusobakterie*
 - uplatňují se velmi vzácně, vyvolávají u oslabených osob **fusospirochetózy**
 - =endogenní infekce, typické gangrenózním rozpadem tkáně (např. **noma**)

Rod *Prevotella* (*P. melaninogenica*)

- **patogenita:** infekce horních cest dýchacích – především anginy a sinusitidy
 - jsou to právě ty případy angín, jejichž klinický obraz jasně svědčí pro bakteriální etiologii, avšak běžná aerobní kultivace je opakovaně negativní, neboť na účast anaerobů se nepomýšlí
- dále aspirační pneumonie, plicní absces, mozkový absces
- beta-laktamové antibiotikum (karbapenemy, piperacilin/tazobaktam, penicilin G), alternativně klindamycin, doxycyklin. Mohou tvořit beta-laktamasy!

Rod *Porphyromonas* (*P. gingivalis*)

- zástupci: *P. asaccharolytica*, *P. endodontalis*
- běžně osídlují dutinu ústní, příp. urogenitální trakt – infekce vyvolávají v těchto lokalizacích

Rod *Veillonella* (*V. parvula*)

- **běžná mikroflóra** dutiny ústní, nosohltanu, případně i střeva a pochvy
- mohou se účastnit na **smíšených infekcích** endogenního původu
- izolována z krve při **sepsích** nebo **endokarditidách**

Rod *Eubacterium* (*E. lentum*)

- součást běžné mikroflóry dutiny ústní, pochvy a střeva
- většinou plicní a intraabdominální abscesy; mohou se podílet na vzniku endokarditid (*E. lentum*)
- léky volby: klindamycin, kombinované aminopeniciliny (ampicilin/sulbaktam, amoxicilin/kys. klavulanová) + gentamicin

Rod *Bifidobacterium* (*B. dentium*)

- součást běžné mikroflóry dutiny ústní a zažívacího traktu
- podílí se na vzniku zubního kamene, byl izolován u pacientů s endokarditidou

Rod *Propionibacterium* (*P. acnes*)

- součást běžné mikroflóry kůže, dutiny ústní, nosohltanu, GIT a urogenitálního traktu
- akné, endokarditidy, sepse, infekce katetrů, apod.
- u akné lze lokálně podávat klindamycin, hlavní je správná hygiena/čištění pleti

Rod *Peptostreptococcus* (*P. magnus*, *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*)

- **patogenita**
 - původci **poporodních endometritid** a **zánětlivých procesů v malé pánvi**, často následované bakteriémií a sepsí
 - v ústní dutině se podílí na rozvoji **periodontitid** a **peritonsilárních abscesů**
 - sinusitidy, otitidy
 - nekrotizující pneumonie a plicní abscesy - při aspiraci z dutiny ústní můžou vzniknout
 - peritonitidy - pokud se dostane střevní obsah do dutiny břišní vyvolají
 - infekce ran, infekce kostí, infekce kloubů, mozkové abscesy, atd.
- **léčba**
 - chirurgické vyčištění ložiska infekce
 - ATB: dobrá citlivost na **peniciliny, cefoxitin, polypeptidy**

Rod *Peptococcus* (*P. niger*)

- klinický význam obdobný jako u rodu *Peptostreptococcus* – **intraabdominální a plicní abscesy**

Rod Actinomyces

- *Actinomyces israeli*
- aktinomykóza
 - průběh aktinomykózy je chronický, pomalý
 - tvoření abscesů a píštělí, z nichž může vytékat hustý hnis obsahující zrníčkové shluky mikrobů zvané drúzy;
 - podle lokalizace se rozlišuje několik forem aktinomykózy – cervikofaciální, thorakální, abdominální
- aktinomykóza je téměř vždy endogenní infekcí
- 1. cervikofaciální aktinomykóza
 - je nejčastější forma s příznivou prognózou.
 - začíná v dutině ústní především na dásních dolní čelisti. Nejprve se projevuje akutním hnisavým zánětem s výrazným otokem měkkých tkání a v submandibulární oblasti.
 - otok přetrvává, je nápadně tuhý, prostoupený mnohotnými abscesy, které se otvírají navenek ve formě píštělí.
 - proces může devastovat chrupavčitý skelet hrtanu, z horní čelisti se může propagovat do sinusů, orbity a lební dutiny
- 2. intrathorakální aktinomykóza
 - projevuje se především postižením plic a perikardu.
 - k infekci může dojít aspirací aktinomycet z ústní dutiny, hematogenním rozsevem nebo šířením per continuitatem z jiné formy aktinomykózy
 - Aktinomykóza plic má charakter chronické abscedující pneumonie, přičemž abscesy uložené v zánětlivě novotvořeném a jizvícím se vazivu se mohou pleurálními srůsty provalovat navenek. Jizevnatá fibróza vede ke vzniku bronchiektázií.
 - Aktinomykóza perikardu se vyznačuje srůsty mezi oběma listy perikardu s četnými abscesy, které průnikem do myokardu a srdečních dutin mohou vést k pyémii
- 3. abdominální aktinomykóza
 - vzniká propagací z hrudníku nebo vzácně jde o primární střevní infekci v apendixu, sigmoideu nebo rektu.
 - morfologicky je zastižen chronický hnisavý fibroproduktivní zánět, který vyústí ve srůsty sousedních břišních orgánů s mnohočetnými abscesy a píštělemi.
 - tromboflebitida mezenterálních žil při střevní aktinomykóze vede k portální pyémii s mnohotnými abscesy a pseudotumorózními aktinomykomy v játrech
- 4. kožní aktinomykóza primární
 - morfologicky se jedná o chronický hnisavě produktivní zánětlivý proces s četnými abscesy a píštělemi šířící se do okolních tkání.
 - jizvení vede ke vzniku tuhých, nepřesně ohraničených útvarů prostoupených abscesy, které se označují jako aktinomykom.
 - v abscesech nacházíme hnis se žlutými zrnkami - tzv. drúzami, což jsou kolonie aktinomycet s kompaktním centrem a radiálním uspořádáním oxyfilních vláken kyjovitého tvaru na periferii
- **Terapie**
 - terapie je vleklá a svízelná
 - penicilin (megadávky), při déletrvající léčbě i doxycylin, linkomycin, klindamycin
 - léčba ATB žádá i chirurgický výkon v příslušné lokalizaci

Sporulující anaeroby

1) Clostridium tetani

- saprofyt ve střevě savců, zejména koní jako součást jejich mikroflóry (s výkaly se dostávají do půdy, sporuluje a vysoce rezistentní spory v půdě přežívají i staletí)
- člověk se infikuje spory, kt. jsou zaneseny do rány = exogenní tetanus
- zdrojem spor je i střevo nebo vagina člověka = endogenní tetanus

Tetanus

- vstupní branou infekce jsou obvykle hlubší znečištěné rány (např. píchnutí vidlemi), ale i popáleniny, bércový vřed, pahýl pupečníku, operační rána (např. střeva) a nesterilní vpichy u narkomanů
- klíčení spor – nutné anaerobní prostředí s nízkým redoxním potenciálem (př. zhmoždění a ischemizace tkání v okolí rány, hnisavé procesy a cizí tělesa v ráně)
- za klinické příznaky zodpovědný toxin - složen z tetanospasminu a tetanolyzinu (+enzym reninového účinku)
- inkubační doba je 3-30 dnů (obv. 7-14 dnů), kratší mají těžké perakutní formy s horší prognózou
- závažnost klinických projevů je závislá na množství toxinu, lokalizaci a způsobu poranění
- bloádou inhibice motorických neuronů vznikají tonické křeče - bolestivé, časem se prodlužují a jejich frekvence vzrůstá. Postižený zůstává při vědomí.
 - žvýkáci svaly – trismus (znemožnění otevření úst)
 - mimické svaly – risus sardonius (výraz sarkastického úšklebu (= svraštělé čelo, snížené koutky, poodhalené zuby)
 - spazmy svalů laryngu a krku – dysfagie a laryngospasmus
 - spazmy svalů trupu – opisthotonus (lukovité prohnutí těla kontrakcí zádočných sv.), prknovitá ztuhlost břišních svalů
 - dýchací svaly – vede rychle ke smrti udušením
 - zásah vegetativního nerv. systému – zvýšené pocení, teplota, tachykardie, arytmie
- celý stav může být komplikován pneumonií, atelektázou plic, svalovými rupturami (rhabdomyolýza, uvolněný myoglobin vede k poškození ledvin) a zlomeninami
- může dojít až k srdeční zástavě
- letalita 10-50%, u novorozenců až 90%
- lokální tetanus – křeče jen v oblasti vstupu infekce, relativně benigní průběh
- **léčba:**
 - specifická – lidský antitetanický globulin
 1. z krve zdravých dárců aktivně imunizovaných proti tetanu
 2. nutno podat rychle, dokud se toxin nenaváže na cílové buňky
 3. zásadně i. m., aplikační dávka do jednoho místa max. 10 ml, obměna míst aplikace
 4. délka podávání závisí na klinickém průběhu onemocnění
 - nespecifická
 1. chirurgické ošetření rány – vyjmutí třísek, odstranění nekrotické tkáně
 2. podpora dýchání
 3. medikamentózní snížení dráždivosti, popř. podání myorelaxancií
 4. ATB terapie - penicilin – pouze podpůrný charakter

2) Clostridium difficile

- ve střevě asi u 5% zdravých dospělých, u dětí a kojenců je výskyt vyšší
- toxiny – schopny vyvolat střevní postižení, které může proběhnout pod obrazem lehčího průjemového onemocnění, ale také jako život ohrožující pseudomembranózní enterokolitida
- často jako nozokomiální infekce (po léčbě antibiotik, které vede k eliminaci střevní mikroflóry; *C.difficile* se tak ve střevě snadno přemnoží a poškozuje střevní sliznici, vede ke klinickým příznakům)

Pseudomembranózní enterokolitida:

- patogeneze
 - toxin A – enterotoxin
 1. poškozuje bb střevního epitelu a způsobuje kumulaci tekutin ve střevě, což má za následek vznik vodnatých někdy hemoragických průjmů
 2. poškozuje i bb imunitního systému a chemotaxe, kt. také vyvolává, vede ke vzniku zánětu střevní sliznice)
 - toxin B – cytotoxin, nekróza napadených tkání
- toxin A poškodí bb a sníží účinnost IS + toxin B poškozené bb zcela destruuje → vznik nekrotických ulcerací pokrytých pablánami
- objevuje se průjem, bolestivé napětí břicha, zvýšená teplota
- může vyústit až v toxické megakolon, v ileus, případně rupturu střeva
- **léčba:** metronidazol, popř. vankomycin, dále potřeba léčit symptomaticky vhodná dieta / probiotiky

3) Clostridium botulinum

Botulismus

- pro člověka je toxický botulotoxin typu A, B, E
 - tvořen dvěma bílkovinnými řetězci spojenými disulfidickými vazbami
 - těžký H-řetězec se váže na nervovou buňku a zprostředkuje průnik lehkého L-řetězce do cytoplazmy
 - lehký L-řetězec - je endopeptidasa, hydrolyzuje proteiny zodpovědné za transport vesikul s acetylcholinem – inhibice uvolňování acetylcholinu do synapse
 - účinky:
 1. paralýza příčně pruhovaných svalů - blokáda přenosu nervového vzruchu na neuromuskulární ploténce
 2. reakce vegetativního nerv. systému (dána postižením eferentních cholinergních nervů)
 3. k trvalému poškození nedochází
- produkce toxinu probíhá v potravinách, resorpce v horní části tenkého střeva – toxin je odolný vůči nízkému pH a proteolytickým enzymům
- alimentární botulismus
 - nejčastější forma, po požití toxinu v potravě
 - inkubační doba 12-36 hod, klinické příznaky za pár hodin nebo až 8 dní
 - čím kratší je inkubační doba, tím závažnější je průběh onemocnění a horší prognóza;
 - intoxikace může probíhat mírně, kdy pacient ani nevyhledá lékařskou pomoc, i velmi těžce, kdy smrt nastává do 24hod
 - úmrtnost vyšší u starších lidí, smrtnost u léčených pacientů asi 7,5%
- traumatický botulismus – kontaminace rány, u narkomanů

- kojenecký botulismus
 - produkce toxinu přímo ve střevě dítěte
 - většinou u kojenců mladších 6 měsíců, živěných především umělou výživou – dochází ke změnám pH stolice a narušení vývoje střevní mikroflóry
 - kromě toho tyto děti nedostávají IgA a další ochranné faktory z mateřského mléka
- střevní botulismus
 - ojedinělý, kontaminace střev dospělých, je-li poškozeno (Crohnova choroba)
- příznaky:
 - na začátku- GIT příznaky (nevolnost, zvracení, bolest břicha)
 - postižení hlav. nervů – dvojité nebo rozostřené vidění, ptóza, mydriáza, ztížené polykání, poruchy artikulace
 - postižení vegetativního nerv. systému - sucho v ústech, zácpa vyvolaná zástavou střevní peristaltiky, později ileus, zástava močení
 - vědomí a citlivost nezměněny
 - později symetrické sestupné paralýzy příčně pruh. svalů, život ohrožuje ochrnutí dýchacích svalů
 - únava, vyčerpání
 - reflexy sníženy
- u přežívajících dochází k úpravě stavu do 6-8 měsíců; slabost a vegetativní poruchy přetrvávají déle
- léčba
 - včasná aplikace polyvalentního antitoxického séra obsahujícího antitoxiny A, B, E
 - symptomatická léčba
 - u traumatického botulotoxinu je nutné provést chirurgickou revizi rány

4) *Klostridia anaerobních traumatóz*

- nejčastější původce – *C. perfringens*
- dále – *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*
- zdroj infekce:
 - exogenní – půda, předměty kontaminované sporami, které se dostanou do rány (válečná poranění, těžké dopravní úrazy, méně často při běžných úrazech)
 - endogenní – klostridia ze střeva pacientů (rizikové jsou operace a poranění trávicího traktu, v dolní polovině břicha a na dolních končetinách, zvláště v okolí rektu). Pooperační infekce je považována za nozokomiální nákazu.
- pro vznik infekce je nezbytný nízký oxidoredukční potenciál a anaerobní prostředí (nejčastěji – zhmožděné rány s nekrotickými tkáněmi, hypoxií a s přítomností cizích těles)
- spory vyklíčí, bakterie se množí a produkují toxin
- tvorba plynu a edému dále zhoršuje zásobení tkáně kyslíkem

Infekce ran

- pyogenní procesy:
 - ve směsi s pyogenními mikroorganismy (stafylokoky apod.), => hnisání => intraabdominální a pelvické hnisavé procesy, abscesy, empyémy
 - nejsou přítomny známky lokálního nebo celkového působení toxinů

- celulitida (plynatá flegmóna)
 - nejsou postiženy svaly
 1. podkoží, tkáň mezi svaly - epifasciální flegmóna
 2. fascie - nekrotizující fasciitida
 - je napadena pouze tkáň, která je již odumřelá (poruchy výživy tkáně => ulcerace)
 - toxiny účinkují jen lokálně - lokální nekrózy, nešíří se do nepoškozené tkáně
 - v postižené tkáni mohou vznikat bublinky plynu (krepitace)
 - pomalý průběh, nevede k sepsi
 - při adekvátní léčbě dobrá prognóza
- klostridiová myonekróza (gangrena emphysematosa, plynatá sněť, maligní edém)
 - inkubace 4h - 3 dny
 - příznaky lokální
 1. intenzivní, pronikavá bolest v ráně a jejím okolí (bývá větší, než by odpovídalo velikosti a charakteru rány)
 2. krepitace: fermentace sacharidů ve tkáni => bublinky plynu => třaskání pod prsty při pohmatu na tkáň
 3. rozvíjí se rozsáhlý tuhý edém
 4. z rány vytéká řídká, serózně-hemoragická tekutina (obsahuje klostridia), později odporně zapáchající exsudát
 5. kůže zpočátku nápadně bílá => žloutne => cyanóza => bronzové zbarvení
 6. na kůži puchýře s černým obsahem a černá ložiska nekrózy
 7. svaly: zvláštní šedobílé zbarvení (jsou kalné, jako uvařené)
 8. zvyšování kapilární permeability => stoupá množství edémové tekutiny => nákaza se šíří do okolí
 - příznaky celkové
 1. důsledek stále většího průniku toxinů do krevního oběhu - narušení funkce všech životně důležitých orgánů
 2. horečka
 3. poruchy srdeční činnosti
 4. cyanóza a dušnost - edém plic + drobná tuková embolie (α toxin!)
 5. masivní intravaskulární hemolýza => ikterus
 6. oligurie, hemoglobinurie + hematurie (krevní výrony v ledvinách)
 7. bilirubin v krvi i moči
 - příznaky při septické komplikaci
 1. zvětšená slezina
 2. septické metastázy => klouby, pleura, svaly, mozek (absces)
 3. rozsáhlý únik tekutiny do tkání + hemolýza => infekční šok
 4. smrt: selhání myokardu a ledvin (24 až 72 h od prvních příznaků!!!)
- **terapie a prevence**
 - protišoková terapie – stabilizace pacienta (tekutiny, krev, podpora cirkulace)
 - chirurgická terapie - odstranění nekroticky změněných tkání, široké otevření rány a jejích chobotů, odstranění cizích těles
 - ATB (ve vysokých dávkách) – peniciliny (penicilin G, širokospektré peniciliny), linkosamidy (klindamycin) a metronidazol
 - léčba kyslíkem v hyperbarické komoře
 - pasivní imunizace: antigangrenózní globulin; profylakticky 1 dávka, terapeuticky 2-10

ANTIBIOTIKA V LÉČBĚ ANAEROBNÍCH INFEKČÍ

Nejdůležitější příčiny rezistence anaerobních bakterií k antibiotikům

- Produkce beta-laktamáz, včetně metallo-betalaktamáz.
- Změna cílových míst, především PBPs.
- V případě klostridií schopnost vytvářet spóry, které jsou vůči účinku antibiotické léčby zcela odolné.

Antibiotika s účinkem na anaerobní bakterie

- Peniciliny
 - základní (přirozené):
 1. benzylpenicilin (penicilin G)
 - kombinované s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz
 1. ampicilin/sulbaktam
 2. amoxicilin/kys. klavulanová
 3. piperacilin/tazobaktam
- Karbapenemy
 - imipenem
 - meropenem
 - ertapenem
- Linkosamidy
 - Často používaná antibiotika s účinkem na grampozitivní bakterie a na anaerobní bakterie.
 - Mají výborný průnik do kostí.
 1. linkomycin
 2. klindamycin
 - Hlavní indikace:
 1. Stafylokokové infekce (především osteomyelitidy)
 2. Infekce s etiologickou spoluúčastí anaerobních bakterií
 3. Aktinomykóza
 - Při podávání linkosamidů byl popsán vznik pseudomembranózní enterokolitidy (etiologická role *Clostridium difficile*).
- Nitroimidazoly
 - Chemoterapeutika s účinkem na anaerobní bakterie a současně i některá protozoa.
 - Používají se v léčbě pseudomembranózní enterokolitidy.
 1. metronidazol
 2. ornidazol

Charakteristika anaerobních infekcí z pohledu mikrobiologa

- Etiologie
 - – polymikrobiální (aspirační pneumonie, intraabdominální infekce)
 - – monomikrobiální (např. abscesy)
- Endogenní/exogenní
- Komunitní/nozokomiální
- Izolace a identifikace anaerobních bakterií – delší časový interval
- Adekvátní stanovení citlivosti k antibiotikům je v případě anaerobních bakterií obtížnější

- Podstatná část anaerobních infekcí má endogenní charakter – příkladem jsou intraabdominální infekce komplikující předcházející chirurgický výkon.
 - V gastrointestinálním traktu je přítomno více jak 400 různých bakteriálních druhů.
 - Edmiston a Walker uvádějí, že z jednoho mikrobiologického vzorku (odebraného a vyšetřeného odpovídajícím způsobem, včetně anaerobních podmínek) jsou izolovány 2 fakultativně anaerobní druhy a 3 anaerobní druhy.
- K nejčastějším etiologickým agens patří kmeny *Bacteroides* sp., které jsou prokazovány např. u 75% pooperačních intraabdominálních infekcí a u 100 % pacientů s gangrenózní nebo perforovanou apendicitidou.

Infekce s etiologickou rolí anaerobních bakterií u pacientů na JIP

- Dolní cesty dýchací
 - Aspirační pneumonie
 - Nekrotizující pneumonie
 - Plicní absces
- Gastrointestinální trakt
 - Peritonitida
 - Intraabdominální absces
 - Hepatální absces
- Urogenitální trakt
 - Tubo-ovariální absces
 - Salpingitida
 - Septický potrat a endometritida
- Kůže a měkké tkáně
 - Nekrotizující fasciitida
 - Myonekróza
 - Diabetická noha
- Centrální nervový systém
 - Mozkový absces
 - Subdurální empyém

Nejčastější anaerobní původci infekcí

- *Bacteroides fragilis* group
 - Většinou se jedná o polymikrobiální infekce, převážně intraabdominální
 - Léky volby: karbapenemy (meropenem, imipenem), piperacilin/tazobaktam, tigecyklin
 - Alternativně: klindamycin, metronidazol, ampicilin/sulbaktam (vhodná kombinace s dalšími antibiotiky – např. aminoglykosidy)
- *Fusobacterium* sp. (*F. nucleatum*)
 - Nachází se v dutině ústní – anaerobní plicní infekce (endogenní charakter)
 - Léky volby: karbapenemy (meropenem, imipenem), piperacilin/tazobaktam
 - Alternativně: ampicilin/sulbaktam, metronidazol, (vhodná kombinace s dalšími antibiotiky – např. aminoglykosidy)
- *Prevotella* sp. (*P. bivia*, *P. melaninogenicus*)
 - Časté anaerobní bakterie v dutině ústní – aspirační pneumonie, plicní absces, mozkový absces
 - Léky volby: beta-laktamové antibiotikum (karbapenemy, piperacilin/tazobaktam, penicilin G)
 - Alternativně: klindamycin, doxycyklin
- *Clostridium* sp. (*C. difficile*, *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi*)
 - *C. difficile* – pseudomembranózní enterokolitida,
 1. léky volby jsou vankomycin - p.os, metronidazol – p.os, i.v.
 - *C.perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi*
 1. většinou se jedná o myonekrózy, rozhodující je chirurgická léčba (odstranění devitalizované tkáně),
 2. ATB léčba: piperacilin/tazobaktam, karbapenemy, klindamycin, penicilin G
- *Eubacterium* sp.
 - Většinou plicní a intraabdominální abscesy
 - Léky volby: klindamycin, kombinované aminopeniciliny (ampicilin/sulbaktam, amoxicilin/kys. klavulanová) + gentamicin
- *Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp.
 - Intraabdominální a plicní abscesy
 - Léky volby: penicilin, klindamycin, kombinované aminopeniciliny

Problémy antibiotické léčby anaerobních infekcí u pacientů na JIP

- Většinou není známa etiologie, přesto je však nutné zahájit antibiotickou léčbu
- Musí být zváženy následující údaje:
 - mono nebo polymikrobiální etiologie?
 - důležitým faktorem je typ a lokalizace infekce,
 - pravděpodobné etiologické agens – intraabdominální infekce se liší od plicních anaerobních infekcí, abscesy nemusí nutně vyžadovat nejúčinnější antibiotika se širokým spektrem účinku (zvláště při drenáži),
 - stav pacienta, případná alergie, funkce ledvin a jater,
 - event. další faktory

Možnosti antibiotické léčby anaerobních infekcí

- Těžce probíhající, většinou intraabdominální, infekce vyžadují razantní antibioterapii:
 - karbapenemy, piperacilin/tazobaktam, tigecyklin
 - alternativou může být kombinační terapie - gentamicin+klindamycin+metronidazol (ale je zde problém multirezistentních gramnegativních enterobakterií)
- Aspirační a nekrotizující pneumonie
 - karbapenemy, piperacilin/tazobaktam
 - lze zvážit kombinační terapii - např. gentamicin+ampicilin/sulbaktam, gentamicin+klindamycin
- Abscesy
 - kombinované aminopeniciliny (ampicilin/sulbaktam, amoxicilin/kys. klavulanová), chirurgické řešení
- Myonekrózy
 - piperacilin/tazobaktam, klindamycin+gentamicin, penicilin G

Peritonitida

- Základním požadavkem pro antimikrobní terapii peritonitidy je dobrá účinnost na aerobní i anaerobní bakterie.
- Mezi nejpravděpodobnější etiologická agens patří
 - z anaerobních bakterií *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Clostridium* sp.,
 - z aerobních pak enterobakterie.
- Léčba - některá vhodná schémata:
 - piperacilin/tazobaktam event. + aminoglykosid (gentamicin)
 - meropenem, imipenem event. + aminoglykosid (gentamicin)
 - aminoglykosid + klindamycin
 - aminoglykosid + kombinovaný aminopenicilin + metronidazol
- Při průkazu etiologické role kvasinek je nutné přidat antimykotickou léčbu (např. flukonazol).
- Po stanovení vyvolávajících bakterií a jejich citlivosti k antibiotikům je vhodná kauzální antibioterapie.

Specifika anaerobní kultivace

- Obligátne (striktně) anaerobní bakterie jsou charakterizovány nesnášenlivostí kyslíku v prostředí.
- Energií získávají fermentací nebo anaerobní respirací, která se zásadně liší od aerobní. Konečným akceptorem elektronů není kyslík, ale jiná látka (např. nitrátová respirace).
- Podle stupně citlivosti na kyslík se rozlišují různě senzitivní anaeroby. Méně než 1 % O₂ v prostředí je už toxické např. pro *Clostridium haemolyticum* nebo *Treponema pallidum*, zatímco *Clostridium perfringens* je schopno množit se ještě při 5 % O₂ v prostředí.
- K anaerobním mikrobům se dále přiřazují bakterie **anaerobní aerotolerantní** - např. *Clostridium histolyticum* a laktobacily. Rovněž nevyužívají kyslík k respiraci, ale jsou schopny snášet běžnou atmosféru (i když mohou růst změněným způsobem).
- Toxicita kyslíku pro obligátne anaerobní bakterie je dána nepřítomností enzymatického vybavení k rozložení jedovatých peroxidů, superoxidů a hydroxylových radikálů, uvolňujících se při metabolismu kyslíku.
- Odolnější druhy však přece jen mohou být vybaveny některými méně účinnými enzymy, např. peroxidázami. Ve spojení s metabolickými cestami, při nichž vzniká méně peroxidů, jsou potom schopny snášet menší množství kyslíku v prostředí.
- Citlivost ke kyslíku závisí dále na růstové fázi bakteriální kultury, druhu kultivační půdy, rychlosti průniku kyslíku k buňce, na procesech brzdících tento průnik, dokonce může být různá i u kmenů téhož druhu.
- Obligátne anaerobní bakterie lze chránit tím způsobem, že se příjemcem pronikajícího kyslíku stanou redukující látky přidávané do kultivačního média (např. cystein, glukóza, thioglykolát, kousky tkáně).
- Uvedené látky pak sníží tzv. oxidoredukční potenciál (Eh, udává se v mV) prostředí, vznikající jako výsledek rovnováhy redukováných a oxidovaných sloučenin.
 - Popisuje se iniciační Eh, při kterém se mikrobi začínají množit a Eh finální (následek jejich pomnožení).
 - Obě hodnoty jsou charakteristické pro konkrétní bakteriální druh, závisí však i na dalších faktorech, např. pH média.
 - Striktně anaerobní bakterie se začínají množit až při záporných hodnotách Eh, kdy v prostředí převládají redukované látky.

Možnosti dosažení optimálních podmínek pro anaerobní kultivaci

1. **Regenerace tekutých a polotuhých půd** povařením po dobu 15-20 minut. Těsně před použitím je tak půda zbavena rozpuštěného kyslíku. Běžný bujón uložený na vzduchu má hodnotu Eh asi 300 mV, kterou lze popsanou regenerací snížit až do záporných hodnot.
2. Do kultivačních půd se přidávají **redukující látky**, které sníží jejich Eh. Většinou je to cystein v množství kolem 1 ‰.
3. Naočkované pevné půdy se inkubují ve speciálních nádobách, tzv. **anaerostatech**. Z nich je možno vývěvou **odsát vzduch a vytvořit umělou atmosféru bez kyslíku** (většinou 85% dusíku, 10% CO₂ a 5% vodíku). Vedle anaerostatů je možné použít i speciální sáčky, z nichž je rovněž odsán vzduch a nahrazen umělou atmosférou.
4. Optimální plyné prostředí se dá rovněž vytvořit **chemickou reakcí** vhodných reagentů (např. křemelina + železný prášek + kyselina citronová + Na₂CO₃ nebo tetrahydridoboritan sodný + kyselina vinná + NaHCO₃) s vodou. Dochází k rychlé vazbě kyslíku, uvolňuje se vodík a CO₂. Anaerobióza se vytvoří do 30 minut.

5. Možnosti 3 a 4 lze doplnit tzv. **metodou katalytickou**, při které dochází pomocí paladiového katalyzátoru k reakci mezi kyslíkem zbylým v anaerostatu a vodíkem. Vznikající voda stéká po vnitřních stěnách anaerostatu, jímá se filtračním papírem a vhodně zvlhčuje kultivační prostředí.
6. **Biologická (Fortnerova) metoda** využívá symbiózy mikrobů aerobních s anaerobními. Fakultativně anaerobní druh *Serratia marcescens*, naočkovaný na těžce půdě, spotřebuje kyslík, sníží Eh prostředí a umožní růst i množení striktních anaerobů. Nevýhodou je pomalý nástup anaerobiózy a její nedostatečná hloubka pro velmi náročné anaeroby, pracnost, možnost kontaminace vyšetřovaného materiálu použitým kmenem *Serratia marcescens* a nedostatek prostoru pro důkladné rozočkování vzorku. Výhodou je naopak možnost použití i v jednoduchých podmínkách a dále skutečnost, že sousedství fakultativně anaerobní bakterie stimuluje růst některých anaerobů.
 - Provedení Fortnerovy metody
 1. Na jednu polovinu půdy v Petriho misce se obvyklým způsobem rozočkuje vyšetřovaný materiál.
 2. Druhá polovina se v silné vrstvě, místo vedle místa, naočkuje kmenem *Serratia marcescens*.
 3. Poté se Petriho miska uzavře nezvyklým způsobem z důvodu zamezení průniku kyslíku. Okraje misky s půdou musí zapadnout do drážky na zevní straně víčka. Takto uzavřená miska se pak po obvodu zajistí lepicí páskou.
 4. Inkubace probíhá při 37 °C nejméně dva dny, neboť striktně anaerobní bakterie mají delší generační dobu a pomaleji rostou.

Půdy pro anaerobní kultivaci

- Půdy pro anaerobní kultivaci lze schematicky dělit na tekuté, polotuhé a pevné :
- **Tekuté** - nejdůležitější je **VL bujón**
 - masopeptonový bujón s 0,5 % NaCl, 0,5 % kvasnicového extraktu a 0,03 % cysteinu
 - Tuto půdu je možno doplnit suplementem, sérem, žlučí a heminem.
 - po obohacení různými cukry nebo dusičnanem a příslušnými indikátory může VL bujón sloužit jako diagnostické médium.
 - před použitím je opět nutná jeho regenerace a po naočkování převrstvení parafrinovým olejem, který zabrání opětovnému přístupu kyslíku.
 - není vhodný pro průkaz toxinů, k tomuto účelu se používá VF bujónu s obsahem masa natráveného pepsinem.
- **Polotuhé** - **Veillonův hloubkový agar**
 - VL bujón + 0,8 % agaru) se vylévá do zkumavek.
 - před použitím se regeneruje a poté očkuje vpichem.
 - je na něm možno sledovat rozvrstvení bakterií podle jejich vztahu ke kyslíku:
 - Obligátně aerobní mikrobi rostou na povrchu,
 - fakultativně anaerobní difuzně v celém sloupci půdy.
 - Striktní anaeroby začínají růst v určité vzdálenosti od povrchu, odpovídající jejich iniciálnímu Eh.
- **Pevné** - **VL krevní agar** s plnou ovčí krví, **Schaedlerův** nebo **Wilkins-Chalgrenův** agar.
 - tyto půdy je nutné rychle použít, neboť uchovávání v chladničce vede k difuzi kyslíku do média.

Zvláštnosti odběru a transportu klinického materiálu pro průkaz anaerobních mikrobů

- Nejlepším transportním médiem je vlastní infekční materiál, neboť je pro mikroba přirozeným prostředím.
- Dobu transportu je třeba zkrátit na minimum, dále je nutné zajistit inertní atmosféru a dostatečnou vlhkost.
- Pokud není možný okamžitý transport do laboratoře, je vhodnější materiál ponechat raději při pokojové teplotě, protože některé anaerobní bakterie špatně snášejí chladničkovou teplotu.
- Tekuté vzorky (hnis, různé punktáty a sekrety) je nejlepší odebrat do injekční stříkačky, ze které je následně vytěsněn vzduch. Po výměně použité jehly za sterilní je tato zapíchnuta do gumové zátky se zajištěním pístu leukoplastí proti posunutí. Tímto způsobem je možné zamezit pronikání vzduchu.
- Pokud je nezbytné odebrat materiál na tampón, je vhodné realizovat transport ve zkumavce s CO₂ (je těžší než vzduch, po otevření zkumavky neunikne), případně zanořit do transportní půdy.
- Vždy je nutné získat co největší množství materiálu, čímž lze zabránit rychlému vysychání.

Kultivační vyšetření

- Kultivační vyšetření je prováděno současně aerobní i anaerobní metodou.
 - kolonie je inokulována na krevní agar a anaerobní pevnou půdu (např. VL agar s krví).
 - Po 24 h inkubace se hodnotí nárůst kmene na krevním agaru aerobně – v případě pozitivního růstu je vyloučen striktně anaerobní původce.
 - Po dalších 24 h následuje hodnocení kmene na anaerobní půdě. Výjimkou je nutnost jejího prodloužení až na 10 dní při podezření na výskyt aktinomycet ve vzorku.
- Anaerobní kultura je poté podrobena druhové identifikaci, případně stanovení citlivosti na antibiotika diluční mikrometodou (MIC).
- Druhovú identifikace vykultivovaného anaerobního kmene se provádí na základě mikroskopické morfologie, posouzení jeho schopnosti sporulace (spory tvoří jen rod *Clostridium*) a biochemických vlastností. K dispozici jsou komerčně vyráběné identifikační soupravy, např. ANAEROtest 23.

1. den	přímá mikroskopie (Gramovo barvení)	
	založení aerobní kultivace	(půdy – krevní, Endova, Sabouraudova, tekutá pomnožovací)
	založení anaerobní kultivace	(VL agar)
2. den	hodnocení aerobních kultur na pevných půdách, vyočkování bujonu	
3. den	hodnocení vyočkováného bujonu	
	hodnocení anaerobních kultur	makroskopické vlastnosti Gramovo barvení
	vyočkování na příslušné půdy	krevní agar VL agar (získání čisté kultury)
5. den	založení identifikačních testů pro anaerobní bakterie	
	založení testů citlivosti	
7. den	hodnocení identifikačních testů	
	hodnocení MIC	