

Univerzita Komenského v Bratislave

Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Mikrobiologická diagnostika infekcií centrálného nervového systému

Vladimíra Sadloňová, Jana Kompaníková, Martina Neuschlová, Jurina Sadloňová,
Marta Jošková, Elena Nováková

Vysokoškolské skriptá



**JESSENIUS FACULTY
OF MEDICINE IN MARTIN**

Comenius University
Bratislava

Martin, 2022

Mikrobiologická diagnostika infekcií centrálného nervového systému

Vysokoškolské skriptá

Autori:

- MUDr. Vladimíra Sadloňová, PhD.
(Ústav mikrobiológie a imunológie, JLF UK v Martine)
- MUDr. Jana Kompaníková, PhD.
(Ústav mikrobiológie a imunológie, JLF UK v Martine)
- MUDr. Martina Neuschlová, PhD.
(Ústav mikrobiológie a imunológie, JLF UK v Martine)
- Doc. MUDr. Jurina Sadloňová, CSc.
(I. interná klinika, JLF UK v Martine)
- Doc. MUDr. Marta Jošková, PhD.
(Ústav farmakológie, JLF UK v Martine)
- Doc. MUDr. Elena Nováková, PhD.
(Ústav mikrobiológie a imunológie, JLF UK v Martine)

Recenzenti:

Prof. MUDr. Branislav Kolarovszki, PhD., MBA

Doc. MUDr. Štefan Sivák, PhD.

Elektronická verzia: Portál MEFANET JLF UK

Vydavateľ: Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Vydanie: prvé

Počet strán: 154

ISBN 978-80-8187-126-9

EAN 9788081871269

PREDSLOV

Infekcie centrálneho nervového systému (CNS) majú nielen nepriaznivý dopad na mozog, ale sú spojené aj s vysokou úmrtnosťou. Výsledky štúdií tiež dokumentujú vysokú sprievodnú komorbiditu a početné neurologické následky, ako napr. stratu sluchu, poškodenie kognitívnych funkcií a poruchy motoriky. Infekcie CNS sú tiež spojené s následnými psychotickými a afektívnymi poruchami. Z prognostického hľadiska je preto namieste včas diagnostikovať a následne včas liečiť ochorenie nervového systému infekčného pôvodu, či už vyvolaného baktériami, vírusmi, hubami alebo parazitmi, s cieľom úplného vyliečenia alebo aspoň minimalizácie následkov infekcie. Predkladané vysokoškolské skriptá preto rozoberajú problematiku mikrobiologickej diagnostiky infekcií CNS rôznej etiológie.

Vysokoškolské skriptá *Mikrobiologická diagnostika infekcií centrálneho nervového systému* sú určené predovšetkým pre študentov všeobecného lekárstva, ktorí ho využijú pri štúdiu mikrobiológie, klinickej mikrobiológie, infektológie a neurológie. Môžu byť nápomocné aj pre lekárov, vedecko-výskumných pracovníkov, študentov zubného lekárstva a nelekárskych študijných programov.

Mikrobiologická diagnostika infekcií centrálneho nervového systému popisuje infekcie CNS, rôznorodých pôvodcov týchto infekcií od bakteriálnych, vírusových, parazitárnych až po mykotických viac či menej známych, so zameraním sa na odber materiálu, jeho transport do laboratória a jeho spracovanie pre metódy priamej a nepriamej mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky.

Metódy priamej a nepriamej mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky infekcií CNS zohrávajú kľúčovú úlohu v rýchlej a správne stanovenej diagnóze a v zahájení cielenej terapie týchto závažných infekcií, ktoré neraz ohrozujú jedinca na živote alebo spôsobujú trvalé poškodenie zdravia.

MUDr. Vladimíra Sadloňová, PhD.

ZOZNAM SKRATIEK

ADEM	akútna diseminovaná encefalomyelitída (Acute Disseminated Encephalomyelitis)
ATB	antibiotikum/antibiotiká
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
BHI	Brain Heart Infusion
BSE	bovinná spongiformná encefalopatia
BSL	Biosafety Level
BWR	Bordet-Wassermannova reakcia
CJD	Creutzfeldtova-Jakobova choroba (Creutzfeldt-Jakob disease)
CMV	cytomegalovírus
CNS	centrálny nervový systém
CPE	cytopatický efekt
CT	počítačová tomografia (Computed Tomography)
DCA	deoxycholát citrátový agar
EA	Endoagar
EBV	Epstein-Barr vírus
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assays
EM	elektrónová mikroskopia
FFI	fatálna familiárna insomnia
FISH	fluorescenčná in situ hybridizácia
FTA-ABS	fluorescenčný-absorpčný test
GAS	beta-hemolytický streptokok skupiny A (Group A <i>Streptococcus</i>)
GAE	granulomatózna amébová encefalitída
GBS	beta-hemolytický streptokok skupiny B (Group B <i>Streptococcus</i>)
GIT	gastrointestinálny trakt
GSS	Gestmannov-Sträusslerov-Scheinkarov syndróm
GT	Germ tube
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> typu b
HIT	hemaglutinačne inhibičný test

HIV	vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (Human Immunodeficiency Virus)
HHV	ľudský herpetický vírus (human herpes virus)
HSA	beta-hemolytický streptokok skupiny A
HSB	beta-hemolytický streptokok skupiny B
HSV	Herpes simplex vírus
ICH	intrakraniálna hypertenzia (Intracranial Hypertension)
ID	imunodifúzia
IF	imunofluorescencia
IGRA	Interferon-Gamma Release Assays
INF γ	interferón gamma
JC/JCV	John Cunningham/John Cunningham vírus
KFR	komplement fixačná reakcia
KVS	kardiovaskulárny systém
LA	latexová aglutinácia (latex agglutination)
LCM	lymfocytová choriomeningitída
MALDI TOF MS	hmotnostná spektrometria s laserovou desorpciou a ionizáciou za účasti matrice s prieletovým analyzátorom (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)
MIC	minimálna inhibičná koncentrácia (Minimal Inhibitory Concentration)
MR	magnetická rezonancia
MRSA	metilín-rezistentný <i>Staphylococcus aureus</i>
MGIT	Mycobacteria growth indicator tube
PAME	primárna amébová meningoencefalitída
PCR	polymerázová reťazová reakcia (Polymerase Chain Reaction)
PML	progresívna multifokálna leukoencefalopatia
PMNL	polymorfonukleárne leukocyty
PNA FISH	peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization
PNC	penicilín (y)
PNS	periférny nervový systém
RIA	rádioimunoanalýza
RQ-PCR	real-time PCR (real-time PCR)

qPCR	kvantitatívna PCR (quantitative PCR)
RRR	rýchla reagínová reakcia
RT-PCR	PCR spojená s reverznou transkripciou (reverse transcription PCR)
RTT	rapid trehalose test
RSV	respiračný syncytiálny vírus
SA/SDA	Sabouraud Agar/Sabouraud Dextrose Agar
sp./spp.	druh/druhy (z lat. species)
SSPE	subakútna sklerotizujúca panencefalitída
TBC	tuberkulóza
TPHA	Treponema pallidum hemagglutination
TPI	Treponema pallidum immobilizing test
TSEs	prenosné spongiformné encefalopatie (Transmissible Spongiform Encephalopathies)
TSI	Triple Sugar Iron
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory test
VL	Veillonov
VNT	vírus neutralizačný test
VRSA	vankomycín-rezistentný <i>Staphylococcus aureus</i>
VZV	Varicella zoster vírus

OBSAH

PREDSLOV

ZOZNAM SKRATIEK

ÚVOD	16
1 Infekcie centrálneho nervového systému	18
1.1 Meningitída, meningoencefalitída	18
1.2 Encefalitída, myelitída, encefalomyelitída	20
1.3 Mozgový absces	21
1.4 Empyém	23
1.4.1 Subdurálny empyém	23
1.4.2 Epidurálny absces	24
1.5 Vaskulitída a tromboflebitída	25
2 Bakteriálne infekcie centrálneho nervového systému	26
2.1 Mikrobiologická diagnostika bakteriálnych infekcií centrálneho nervového systému – všeobecne	27
2.1.1 Klinický materiál	27
2.1.2 Detekcia a identifikácia	31
2.1.2.1 Mikroskopia	31
2.1.2.2 Kultivácia	32
2.1.2.3 Biochemická analýza	33
2.1.2.4 Dôkaz antigénov	34
2.1.2.5 Dôkaz nukleových kyselín	35

2.1.2.6	Dôkaz protilátok	36
2.1.2.7	Stanovenie citlivosti na antibiotiká	36
2.2	Pôvodcovia bakteriálnych infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika	38
2.2.1	Grampozitívne baktérie	38
2.2.1.1	Grampozitívne fakultatívne anaeróbne koky	38
	<i>Staphylococcus</i>	38
	<i>Staphylococcus aureus</i>	39
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	40
	<i>Streptococcus</i>	40
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	41
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	42
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	43
2.2.1.2	Grampozitívne anaeróbne koky	44
2.2.1.3	Grampozitívne sporulujúce fakultatívne anaeróbne paličky	45
	<i>Bacillus anthracis</i>	45
2.2.1.4	Grampozitívne sporulujúce anaeróbne paličky	46
	<i>Clostridium</i>	46
	<i>Clostridium perfringens</i>	46
	<i>Clostridium tetani</i>	47
2.2.1.5	Grampozitívne nesporulujúce fakultatívne anaeróbne paličky	48
	<i>Listeria monocytogenes</i>	48
2.2.1.6	Grampozitívne nesporulujúce aeróbne paličky	50
	<i>Nocardia spp.</i>	50
2.2.1.7	Grampozitívne nesporulujúce mikroaerofilné až anaeróbne paličky	51

	<i>Actinomyces spp.</i>	51
2.2.2	Gramnegatívne baktérie	52
2.2.2.1	Gramnegatívne aeróbne koky	52
	<i>Neisseria meningitidis</i>	52
2.2.2.2	Gramnegatívne fakultatívne anaeróbne paličky	53
	<i>Haemophilus influenzae</i>	53
	<i>Enterobacteriaceae</i>	54
	<i>Escherichia coli</i>	55
	<i>Salmonella spp.</i>	56
	<i>Shigella spp.</i>	57
	Ostatné enterobaktérie	57
2.2.2.3	Gramnegatívne nefermentujúce aeróbne paličky	57
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	58
2.2.2.4	Gramnegatívne kultivačne náročné aeróbne paličky	59
	<i>Brucella spp.</i>	59
	<i>Francisella tularensis</i>	60
	<i>Legionella pneumophila</i>	61
	<i>Bordetella pertussis</i>	61
2.2.2.5	Gramnegatívne anaeróbne paličky	62
	<i>Bacteroides fragilis</i>	62
	<i>Prevotella melaninogenica</i>	63
2.2.3	Iné ako grampozitívne a gramnegatívne baktérie	63
	<i>Mycobacterium</i>	63
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	64

	<i>Mycoplasma</i>	65
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	65
	<i>Chlamydia</i>	66
	<i>Chlamydia psittaci</i>	66
	<i>Spirochaeta</i>	66
	<i>Treponema pallidum subsp. pallidum</i>	66
	<i>Leptospira spp.</i>	68
	<i>Borrelia spp.</i>	68
	Rickettsie a príbuzné baktérie	69
	<i>Rickettsie spp.</i>	69
	<i>Coxiella burnettii</i>	70
	<i>Bartonella henselae</i>	71
3	Vírusové infekcie centrálneho nervového systému	72
3.1	Mikrobiologická diagnostika vírusových infekcií centrálneho nervového systému – všeobecne	75
3.1.1	Klinický materiál	76
3.1.2	Detekcia a identifikácia	78
3.1.2.1	Elektrónová mikroskopia	78
3.1.2.2	Izolácia vírusov	79
3.1.2.3	Dôkaz antigénov	80
3.1.2.4	Dôkaz nukleových kyselín	81
3.1.2.5	Dôkaz protilátok	82
3.2	Pôvodcovia vírusových infekcií centrálneho nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika	84
3.2.1	DNA vírusy	84

3.2.1.1	Neobalené DNA vírusy	84
	Polyomavírusy	84
	John Cunningham vírus	84
	Adenovírusy	85
3.2.1.2	Obalené DNA vírusy	85
	Herpesvírusy	85
	Herpes simplex vírus	85
	Varicella-zoster vírus	87
	Epstein-Barr vírus	89
	Cytomegalovírus	89
	Poxvírusy	90
	Vírus varioly	90
	Vírus vakcínie	90
3.2.2	RNA vírusy	91
3.2.2.1	Neobalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou	91
	Pikornavírusy	91
	Enterovírusy	91
	Poliovírusy	91
	Coxackie vírusy	91
	Echovírusy	91
3.2.2.2	Obalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou	92
	Flavivírusy	92
	Vírusy kliešťovej encefalitídy	92
	Vírus japonskej encefalitídy	93
	Vírus horúčky dengue	94
	Vírus žltej zimnice	94
	Vírus Zika	95
	Togavírusy	95

	Alfavírusy	95
	Rubivírus	95
	Vírus rubeoly (Rubeolla vírus)	95
	Retrovírusy	96
	Lentivírusy	96
	Vírus HIV-1 a vírus HIV-2	96
3.2.2.3	Obalené jednovláknové RNA vírusy s negatívnou polaritou	98
	Ortomyxovírusy	98
	Influenza vírus	98
	Paramyxovírusy	98
	Vírus osýpok (Morbilli vírus)	98
	Vírus príušníc (Mumps vírus)	99
	Rabdovírusy	100
	Lyssa vírus	100
	Vírus besnoty (Rabies vírus)	100
	Bunyavírusy	101
	Arenavírusy	101
	Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy	101
3.2.2.4	Prióny	102
4	Mykotické infekcie centrálného nervového systému	105
4.1	Mikrobiologická diagnostika mykotických infekcií centrálného nervového systému – všeobecne	107
4.1.1	Klinický materiál	108
4.1.2	Detekcia a identifikácia	108
4.1.2.1	Mikroskopia	108
4.1.2.2	Kultivácia	110

4.1.2.3	Biochemická analýza	111
4.1.2.4	Dôkaz antigénov a metabolitov	112
4.1.2.5	Dôkaz nukleových kyselín	113
4.1.2.6	Dôkaz protilátok	114
4.1.2.7	Stanovenie citlivosti na antimykotiká	114
4.2	Pôvodcovia mykotických infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika	115
	<i>Candida spp.</i>	117
	<i>Cryptococcus spp.</i>	119
	<i>Aspergillus spp.</i>	120
	<i>Mucormycetes (Zygomycetes)</i>	121
	<i>Coccidioides spp.</i>	122
	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	123
	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	124
	<i>Histoplasma capsulatum</i>	125
5	Parazitárne infekcie centrálného nervového systému	127
5.1	Mikrobiologická diagnostika parazitárnych infekcií centrálného nervového systému – všeobecne	129
5.1.1	Klinický materiál	129
5.1.2	Detekcia a identifikácia	130
5.1.2.1	Mikroskopia	131
5.1.2.2	Kultivácia	132

5.1.2.3	Dôkaz antigénov	132
5.1.2.4	Dôkaz nukleových kyselín	133
5.1.2.5	Dôkaz protilátok	133
5.2	Pôvodcovia parazitárnych - protozoárnych infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika	134
5.2.1	Améby – meňavky (Amoeba)	134
	<i>Naegleria fowleri</i>	134
	<i>Acanthamoeba spp.</i>	135
	<i>Balamuthia mandrillaris</i>	135
	<i>Sappinia diploidea</i>	135
	<i>Entamoeba histolytica</i>	136
5.2.2	Bičíkovce (Flagellata)	137
	<i>Trypanosoma spp.</i>	137
5.2.3	Kokcidie (Coccidia)	138
	<i>Toxoplasma gondii</i>	138
	<i>Plasmodium falciparum</i>	140
5.3	Pôvodcovia parazitárnych - helmintových infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika	142
5.3.1	Motolice (Trematoda)	142
	<i>Schistosoma spp.</i>	142
	<i>Paragonimus westermani</i>	144
5.3.2	Pásomnice (Cestoda)	145
	Taenia	145
	<i>Taenia solium</i>	145

	<i>Taenia multiceps</i>	146
	<i>Echinococcus</i>	147
	<i>Echinococcus granulosus</i>	147
	<i>Echinococcus multilocularis</i>	148
5.3.3	Hlístovce (Nematoda)	149
	<i>Trichinella spiralis</i>	149
	<i>Toxocara spp.</i>	149
	<i>Angiostrongylus spp.</i>	150
	<i>Baylisascaris procyonis</i>	151
	 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	 153

ÚVOD

Pôvodcovia infekcií - baktérie, vírusy, huby a parazity predstavujú jednu z príčin ochorení a následného možného poškodenia aj nervového systému. Z prognostického hľadiska je najdôležitejšie včas diagnostikovať a následne včas liečiť ochorenie nervového systému infekčného pôvodu, s cieľom úplného vyliečenia alebo aspoň minimalizácie následkov infekcie.

Infekcie nervového systému majú svoje špecifiká, na základe ktorých ich možno rozdeliť z viacerých hľadísk do rôznych skupín. Na základe miesta infekcie vzhľadom k nervovému systému sa rozdeľujú na infekcie CNS a infekcie periférneho nervového systému (PNS). Podľa etiologického infekčného agensa, ide o bakteriálne, vírusové, mykotické alebo parazitárne infekcie CNS; infekcie CNS vyvolané oportúnnymi alebo obligátnymi patogénmi. Vzhľadom na charakter priebehu infekcie rozlišujeme akútne, subakútne, chronické a rekurentné infekcie CNS. Podľa veku postihnutého jedinca sú to infekcie CNS novorodencov (neonatálne), detí, adolescentov, dospelých a starých ľudí. Na základe výskytu infekcií môže ísť o infekcie CNS vo vyspelých a rozvojových krajinách alebo na základe miesta získania infekcie, infekcie CNS získané v komunite alebo získané v nemocničnom zariadení (nozokomiálne) alebo inde. Na základe nálezu v likvore sa infekcie CNS rozdeľujú na hnisavé (purulentné, pyogénne) a nehnisavé (aseptické, serózne).

Nervový systém má svoje mechanické (koža, sliznice, skelet) a bariérové mechanizmy (hematoencefalická bariéra), ktoré ho chránia pred exogénnymi aj endogénnymi vplyvmi. Lebka a chrbtica sú pre mozog a miechu nielen mechanickou ochranou, ale spolu s hematoencefalickou bariérou chránia aj pred šírením infekcií CNS. Hlavnou príčinou invázie mikroorganizmov do CNS sú krvné cievy a nervy, ktoré prestupujú cez lebku a chrbticu, preto infekcie CNS vznikajú najčastejšie hematogénnym šírením pôvodcov infekcií (bakteriémia, virémia), ďalej šírením pôvodcov infekcií pozdĺž periférnych nervov, prípadne priamo t.j. priamym zaneseným infekčného agensa do CNS (penetrujúce poranenia lebky a chrbtice, obalov mozgu a miechy). Príkladmi pôvodcov hematogénneho šírenia do CNS, ktoré je najčastejšie, sú z vírusov poliovírusy, vírus mumpsu, rubeoly,

osýpok alebo z baktérií *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), meningokoky či pneumokoky. Invázia cestou periférnych nervov je menej častá, ale typická pre šírenie vírusu herpes simplex, varicella-zoster alebo vírusu besnoty. Infekcie uší, sínusov, úrazy hlavy a chrbta, vrodené defekty ako spina bifida a iné môžu byť tiež príčinou, a to lokálneho šírenia infekcií do CNS.

Infekčné ochorenia CNS z hľadiska lokalizácie postihnutia a klinického obrazu zahŕňajú nasledovné infekcie: meningitídy, encefalitídy, myelitídy a ich kombinácie, ďalej mozgový absces, empyém (subdurálny a epidurálny empyém), intrakraniálne vaskulitídy a tromboflebitídy.

1 Infekcie centrálneho nervového systému

1.1 Meningitída, meningoencefalitída

Meningitída je zápal postihujúci obaly mozgu a miechy v dôsledku prieniku infekcie (najčastejšie bakteriálnej) do mozgovomiešneho moku. Môže ísť aj o kombináciu infekcie vo forme **meningoencefalitídy** s postihnutím mozgových obalov aj mozgového tkaniva. Z hľadiska klinického obrazu a nálezu v likvore rozlišujeme meningitídy resp. meningoencefalitídy na hnisavé (septické/purulentné/pyogénne) a nehnisavé (aseptické/serózne).

Hnisavé meningitídy sú obyčajne spôsobené baktériami. Akútny priebeh je charakteristický najmä pre bakteriálnych pôvodcov, a to najčastejšie *H. influenzae* (do zavedenia povinnej vakcinácie), *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) a *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*; dnes povinné očkovanie proti pneumokokom). Ďalšími pôvodcami sú *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), koaguláza-negatívne stafylokoky, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), streptokoky skupiny A (*Streptococcus pyogenes* – *S. pyogenes*), niekedy aj pôvodcovia nozokomiálnych nákaz ako sú *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Proteus spp.* a *Pseudomonas spp.* (napr. nozokomiálna bakteriálna meningitída asociovaná s neurochirurgickým výkonom), u detí sú to *Escherichia coli* (*E. coli*) a streptokoky skupiny B (*Streptococcus agalactiae* – *S. agalactiae*). Zmiešané infekcie niekedy zahŕňajú aj anaeróbne mikroorganizmy. Z nebakteriálnych pôvodcov hnisavých meningitíd môže ísť aj o mykotické infekcie spôsobené *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*), *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* a iné. Z parazitov to môžu byť améby ako *Naegleria fowleri* (*N. fowleri*).

Pri hnisavých meningitídach sa infekcia do lebečnej dutiny a spinálneho kanála môže dostať hematogénnou cestou z iného miesta alebo prestupom infekcie per continuitatem t.j. priamo z infekčného ložiska v blízkosti obalov CNS (z kostného tkaniva, periostu, spojivového tkaniva, infekcie kože) alebo priamo inokuláciou infekcie do CNS (trauma, neurochirurgický zákrok, shunt).

Inkubačná doba bakteriálnej meningitídy môže byť rôzna, no obyčajne býva krátka (niekoľko hodín až dní). Klinický obraz pacienta obyčajne zahŕňa febrílie,

bolesti hlavy, nauzeu s vracaním, poruchu vedomia (obyčajne kvalitatívnu), stuhnutosť šije, meningeálne príznaky s meningeálnou polohou a ďalšie. U niektorých pacientov s meningokokovou infekciou môže byť jediným diagnostickým znakom fyzikálneho vyšetrenia prítomnosť kožnej vyrážky - petéchie (zakrvácanie do kože).

Infekčný pôvod nehnisavej meningitídy resp. meningoencefalitídy môže byť vírusový aj bakteriálny. Z vírusov sú to najčastejšie echovírusy, Coxsackie a polio vírusy a Herpes simplex vírus-2 (HSV-2), v poslednom čase aj vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti – Human Immunodeficiency Virus (HIV), menej často vírus parotitídy, vírus lymfocytovej choriomeningitídy (LCM), adenovírusy, arbovírusy. Z baktérií *Treponema pallidum* (*T. pallidum*), *Brucella* spp., *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*), *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) alebo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Príčinou nehnisavej meningitídy môžu byť aj mykotické infekcie a nehnisavej meningoencefalitídy parazity ako *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), *Taenia solium* (*T. solium*) a *Plasmodium* spp. (hlavne *Plasmodium falciparum* – *P. falciparum*).

Pri nehnisavých neuroinfekciách (meningitídach resp. meningoencefalitídach) môže ísť o virémiu, retrográdny axonálny transport alebo transport infekčného agensa vo vnútri infikovaných buniek.

Serózna/aseptická meningitída resp. meningoencefalitída sa prejavuje klinickým obrazom meningeálneho syndrómu s febrilným začiatkom, bolesťou hlavy, obyčajne s miernym priebehom, zriedkavo fatálnym.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika meningitíd a meningoencefalitíd sa opiera o vyšetrenie likvoru a krvi s identifikáciou infekčného agensa metódami priamej a nepriamej laboratórnej diagnostiky. Laboratórnu diagnostiku dopĺňajú zobrazovacie metódy (počítačová tomografia/Computed Tomography - CT, magnetická rezonancia - MR).

Liečba závisí od pôvodcu infekcie. Liečba hnisavých meningitíd je založená na podávaní antimikrobiálnych látok – antibiotík (ATB), ktoré prestupujú cez hematoencefalickú bariéru. Neliečená akútna purulentná meningitída končí

fatálne. U tých, ktorí prežili takúto infekciu, môžu v morbidite dominovať závažné zdravotné následky (hluchota, mentálna retardácia a iné).

1.2 Encefalitída, myelitída, encefalomyelitída

Encefalitída je zápal mozgového tkaniva (obyčajne vírusového pôvodu).

Myelitída je zápal miechy. Ich kombináciou je **encefalomyelitída**.

V prípade vírusových encefalitíd, akútnu encefalitídu (encefalomyelitídu) spôsobujú arbovírusy prenášané artropódami, herpetické vírusy a niektoré enterovírusy, subakútnu encefalitídu (encefalomyelitídu) vírusy zo skupiny myxo- a paramyxovírusov, morbili vírus, vírus rubeoly a subchronickú až chronickú encefalitídu (resp. encefalomyelitídu) vírus HIV, papovavírus a John Cunningham (JC) vírus spôsobujúci progresívnu multifokálnu leukoencefalopatiu (PML). V prípade vírusu poliomyelitídy dochádza k postihnutiu miechy - poliomyelitis anterior acuta. Z bakteriálnych pôvodcov encefalitíd sú to *L. monocytogenes*, *T. pallidum*, *Leptospira spp.*, *Actinomyces spp.*, *Nocardia spp.*, *Borrelia spp.*, *Rickettsia rickettsii* (*R. rickettsii*), *Coxiella burnetii* (*C. burnetii*), *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*), *M. tuberculosis* a ostatné/iné druhy.

Vstup infekcie do CNS môže byť hematogénny (virémia, bakteriémia) alebo priamy vstupom pôvodcu infekcie do intrakránia alebo neurogénny pozdĺž nervových vlákien alebo prenosom vo vnútri infikovaných buniek. Najčastejšou formou vstupu je hematogénna diseminácia infekčného pôvodcu vírusovej, ale i bakteriálnej, niekedy i mykotickej a parazitárnej infekcie mozgu a/alebo miechy. Ide o postihnutie mozgových ciev, cez ktoré sa infekčný pôvodca po prekonaní hematoencefalickej bariéry dostane do tkaniva CNS. Pri vírusových infekciách ide o hemoragicko-nekrotickú encefalitídu, pri bakteriálnych infekciách dochádza obyčajne k tvorbe ischemicko-nekrotických lézií – mikroabscesov. Niektoré infekcie vírusového, ale aj bakteriálneho a mykotického pôvodu môžu prebiehať subakútne alebo subchronicky pod obrazom panencefalitídy (postihnutie mozgového tkaniva komplexne bez predilekcií).

Klinicky sa encefalitída manifestuje febríliami, prejavmi meningizmu alebo meningeálneho syndrómu, poruchami vedomia kvalitatívne-kvantitatívneho

charakteru (delírium, konfúzne stavy, obnubilácia, sopor, kóma), častými konvulzívnymi stavmi, poruchami senzorických funkcií, poruchami reči, poruchami motorických a senzitívnych nervov, mozgových nervov, prejavmi poškodenia pyramídovej dráhy, príznakmi poruchy extrapyramídového systému s hyperkinézami a progresívnym priebehom, ktorý môže byť až letálny.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa opiera o vyšetrenie likvoru a krvi s identifikáciou infekčného agensa metódami priamej a nepriamej laboratórnej diagnostiky. Laboratórnu diagnostiku dopĺňajú zobrazovacie metódy (CT, MR).

Liečba závisí od pôvodcu infekcie. Vo väčšine prípadov však ide len o symptomatickú a podpornú terapiu vírusových encefalitíd.

1.3 Mozgový absces

Mozgový absces je definovaný ako ložisková ohraničená purulentná infekcia mozgového tkaniva najčastejšie bakteriálnej etiológie.

K významným pôvodcom abscesov môžeme zaradiť napr. anaeróbne gram-negatívne baktérie, predovšetkým *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, a *Prevotella spp.* a z aeróbno-anaeróbných streptokoky. Častými sú aj enterobaktérie rôznych rodov (*Proteus*, *Escherichia*, *Klebsiella*). Stafylokoky (*S. aureus* a iné stafylokoky) sú často asociované s traumou a spinálnym epidurálnym abscesom. Menej častými pôvodcami, na ktoré ale netreba zabudnúť sú aj druhy *Actinomyces spp.*, *Nocardia spp.* a huby (*Aspergillus spp.*). V etiológii veľkej väčšiny mozgových abscesov sa podieľa nie jeden, ale viacerí pôvodcovia infekcie.

Takmer polovica mozgových abscesov vzniká kontinuálnym prenosom infekcie do intrakránia z frontálnej, etmoidálnej, sfenoidálnej alebo mastoidálnej oblasti infekcie. Ďalej môže ísť o cestu hematogénneho prenosu pri sepe alebo bakteriémii (akútne a subakútne bakteriálne endokarditídy), pri mykotickej embolizácii do tkaniva CNS (pri pľúcnych abscesoch, pľúcnych bronchiektáziách, pri kongenitálnych defektoch septa) a pri tromboflebitídach venózných splavov, infekčných vaskulitídach ako dôsledok ischemickej nekrózy nervového tkaniva.

Asi 10% mozgových abscesov vzniká zavlečením infekcie do intrakránia pri penetrujúcej traume hlavy alebo neurochirurgickom zákroku.

Klinický obraz mozgového abscesu sa prezentuje bolesťami hlavy, horúčkou a ložiskovým neurologickým deficitom, ktorý je často sprevádzaný zvracaním. U imunokompromitovaných jedincov je klinický priebeh ochorenia afebrilný. V prípade invázie infekcie z nosohltanu a prínosových dutín býva mozgový absces lokalizovaný vo frontálnom laloku. V klinickom obraze sú febrílie, stuhnutosť šije, obraz prefrontálneho syndrómu, poruchy hybnosti, senzorických a rečových funkcií pri postihnutí dominantnej hemisféry, s rozvojom intrakraniálnej hypertenzie (ICH) a niekedy aj s obrazom mestnavej papily. V prípade invázie infekcie z mastoidálnych dutín alebo ucha býva mozgový absces lokalizovaný v temporálnom laloku alebo mozočku. Pri postihnutí temporálneho laloku sú febrílie, stuhnutosť šije, syndróm ICH, často aj senzorické poruchy, poruchy reči, zraku, konvulzívne stavy. Môže vzniknúť obraz temporálneho kónusu, čo môže mať až fatálny koniec. Pri postihnutí mozočka môže vzniknúť rovnako obraz okcipitálneho kónusu aj s fatálnym koncom.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa stanovuje z hemokultúr. Odber likvoru a jeho vyšetrenie nie je štandardom z dôvodu rizika vzniku mozgového kónusu vzhľadom k možnej ICH. Stanovenie pôvodcu infekcie je možné aj punkciou ložiska. V diagnostike sú zásadné zobrazovacie metódy (CT, MR).

Liečba je obyčajne kombinovaná t.j. ATB liečba s neurochirurgickým výkonom (punkcia abscesu, drenáž abscesu, odstránenie abscesu). Napriek antibiotickej ére sa mozgový absces naďalej spája s vysokou mortalitou. Príčin je veľa, ale obzvlášť dôležitou príčinou je nebezpečne rýchly nárast intrakraniálneho tlaku, ktorý často sprevádza vývoj mozgového abscesu už v počiatočných štádiách cerebritídy. Okrem ATB liečby rozhodujúci význam majú aj ďalšie aspekty menežmentu, ako sú napr. kontrola zvýšeného intrakraniálneho tlaku, drenáž (pod CT kontrolou) alebo excízia abscesu. Keďže prítomnosť baktérií v abscese môže pretrvávať aj napriek systémovej chemoterapii, aj z tohto dôvodu má chirurgická intervencia nenahradiťné miesto v úspešnej liečbe abscesov. Chirurgická intervencia nemusí byť vždy možná napr. pri mnohopočetnom výskyte abscesov alebo v prípade zlej lokalizácie abscesu. Na druhej strane pri včasnej

diagnostike a monitoringu liečby chirurgická liečba abscesu nemusí byť dokonca ani potrebná. Vhodný antimikrobiálny režim musí zohľadňovať nielen rozmanitú polymikrobiálnu flóru pôvodcov, ale aj vlastnosti potencionalne účinných antimikrobiálnych látok ako sú penetrácia do mozgového tkaniva, likvoru a dutiny abscesu. Iniciálna ATB liečba je založená na poznaní etiológie mozgových abscesov t.j. najčastejších pôvodcov mozgových abscesov, s tým, že najčastejšie ide o polymikrobiálnu bakteriálnu flóru. Prognóza je vážna, ochorenie často končí fatálne alebo v prípade vyliečenia zostávajú často trvalé následky (napr. epileptické záchvaty).

1.4 Empyém (subdurálny empyém a epidurálny absces)

1.4.1 Subdurálny empyém

Subdurálny empyém je ohraničený hnisavý zápal v subdurálnom priestore t.j. medzi dura mater a arachnoideou, ktorý môže byť prítomný v intrakrániu (intrakraniálny subdurálny empyém) alebo v spinálnom kanáli (spinálny subdurálny empyém). Subdurálny empyém vzniká najčastejšie na podklade prieniku infekcie z infekčného ložiska v okolí (koža, dutiny, intrakraniálne a spinálne venózne plexy, tromboflebitický proces venózných splavov) alebo v dôsledku sekundárnej infekcie subdurálneho hematómu, zriedkavo hematogénne pri bakteriémii alebo sepe. Ide o veľmi závažné ochorenie s nepriaznivou prognózou.

Pri **intrakraniálnom subdurálnom empyéme** bývajú febrílie, prejavy ICH (cefalea, nauzea, niekedy vomitus) a obyčajne ložisková symptomatológia z tlaku empyému. Môžu byť aj poruchy vedomia až kóma.

Pri **spinálnom subdurálnom empyéme** bývajú prejavy z kompresie miechy a/alebo koreňov.

Vo všeobecnosti pôvodcovia subdurálneho empyému sú rovnakí alebo podobní ako pôvodcovia mozgového abscesu, veľmi často sa jedná o anaeróbnu etiológiu, a preto pri týchto diagnózach je indikovaná rovnaká alebo podobná ATB liečba.

Pri akútnej forme je nevyhnutná urgentná chirurgická liečba (drenáž hnisu) s lokálnym výplachom priestoru ATB.

1.4.2 Epidurálny absces

Epidurálny absces je ohraničený ložiskový hnisavý zápal v epidurálnom priestore t.j. nad dura mater, ktorý môže byť lokalizovaný v intrakrániu (intrakraniálny epidurálny absces) alebo spinálnom kanáli (spinálny epidurálny absces). Vzniká na podklade infekčného procesu lokalizovaného v dutinách alebo pri osteomyelitíde lebečnej klenby alebo spinálneho kanála, zriedkavo sa vytvorí aj na podklade hematogénneho šírenia. Častým zdrojom infekcie sú nozokomiálne infekcie (stafylokokové) po operačnom zákroku. Klinický obraz je podobný subdurálnemu empyému. V likvore býva mierna pleocytóza.

Intrakraniálny epidurálny absces je menej častý a aj menej akútny v porovnaní so spinálnym epidurálnym abscesom. Obyčajne je asociovaný s frontálnou sínusitídou, predchádzajúcou kraniotómiou alebo mastoiditídou. Morbidita a mortalita izolovaných intrakraniálnych epidurálnych abscesov je obyčajne nízka. Avšak veľká väčšina pacientov má absces asociovaný aj so subdurálnym empyémom alebo meningitídou. Liečba obyčajne pozostáva z chirurgickej drenáže abscesu spolu s infikovaným sínusom a intravenózne ATB liečby. Empirická ATB liečba by mala byť zvolená na základe pravdepodobného pôvodcu infekcie.

Spinálny epidurálny absces je síce zriedkavé, ale potencionálne devastujúce ochorenie. Mnoho abscesov začína ako fokálna pyogénna infekcia postihujúca vertebrálny disk alebo spojenie medzi diskom a telom stavca (pyogénna infekčná diskitída). V týchto prípadoch sú abscesy často lokalizované v prednej časti spinálneho kanála. Avšak v prípadoch abscesov hematogénneho pôvodu býva primárna lokalizácia v zadnej časti spinálneho kanála. V prípade bakteriálnych abscesov najčastejším pôvodcom u dospelých býva *S. aureus*, z ďalších pôvodcov sú to ďalšie druhy stafylokokov, streptokoky, gram-negatívne baktérie a anaeróby. Rovnako aj u detí je *S. aureus* predominantným patogénom

spinálneho epidurálneho abscesu s častým nálezom v komunite získanej rezistencie meticilín rezistentného *S. aureus* (MRSA).

1.5 Vaskulitída a tromboflebitída (intrakraniálna)

Vaskulitída je zápalové postihnutie menších ciev (arteriol, venúl) a **tromboflebitída** je zápalové postihnutie venózných sínusov na podklade hematogénne podmienenej infekcie, najčastejšie bakteriémie alebo virémie, ale aj iných infekčných pôvodcov alebo šírenia infekcie z okolia (z kože, prínosových dutín, mastoidálnych dutín) alebo priamym zanesením infekcie do intrakrania (pri traumatickom poškodení lebky).

Ide o zápalové postihnutie endotelu a mezotelu cievnej steny s tvorbou septických trombov a infekčných aterómov, ktoré zužujú cievu. V parenchýme mozgu nachádzame ischemicko-hemoragické nekrotické ložiská v dôsledku venózne stázy a edému mozgu.

Klinický obraz závisí od postihnutia sínusu. Tromboflebitída sinus transversus vzniká šírením infekcie z okolia (z mastoiditídy, zápalu vnútorného a stredného ucha), je charakterizovaná intermitentne zvýšenou teplotou, bolesťou hlavy, edémom papily, môže byť prítomná porucha sluchu až strata sluchu s postupným rozvojom ICH. Tromboflebitída sinus cavernosus vzniká obyčajne ako komplikácia zápalových procesov na tvári alebo pri infekciách prínosových dutín. V klinickom obraze je chemóza, exoftalmus, edém viečka, tváre a nosového krídla, edém papily, retinálne hemorágie až oftalmoplégia. Tromboflebitída sinus longitudinalis superior vzniká najčastejšie hematogénnym šírením infekcie alebo na podklade infekcie pri traume alebo operácii. Klinický obraz môže tvoriť syndróm ICH, stavy zvýšenej teploty, stuhnutosť šíje a ďalšie prejavy meningeálneho syndrómu. Tromboflebitída môže progredovať do obrazu meningitídy, empyému a mozgového abscesu. Obávanou komplikáciou je aj rozvoj hydrocefalu.

Liečba je antimikrobiálna, hematologická a neurochirurgická (odstránenie primárneho fokusu, pokus o rekanalizáciu splavu alebo jeho ligatúry).

2 Bakteriálne infekcie centrálneho nervového systému

Pôvodcami bakteriálnych infekcií CNS sú mikroorganizmy - rôzne baktérie (koky, paličky a iné), ktoré môžu byť príčinou meningitíd (seróznej alebo hnisavej), encefalitíd resp. meningoencefalitíd, abscesov, empyémov, intrakraniálnych vaskulitíd alebo tromboflebitíd. Priebeh bakteriálnych infekcií CNS býva najčastejšie akútny, ale môže byť aj subakútny, chronický alebo rekurentný. Zdrojom infekcie je obyčajne chorý človek alebo aj nosič, v niektorých prípadoch aj zvier, ktorí vylučujú baktérie do vonkajšieho prostredia. Bránou vstupu infekcie môže byť dýchací systém, zažívací systém alebo poškodená integrita tkanív najčastejšie kože a slizníc.

Prehľad bakteriálnych infekcií CNS a ich pôvodcov uvádza tabuľka 1.

Tabuľka 1 Prehľad bakteriálnych infekcií centrálneho nervového systému a ich pôvodcov (modifikované podľa Murray et al., 2016).

Infekcie CNS	Patogény – baktérie
Meningitída	streptokoky skupiny B, <i>S. pneumoniae</i>, <i>N. meningitidis</i>, <i>L. monocytogenes</i>, <i>H. influenzae</i>, <i>E. coli</i> , ostatné/iné baktérie rodu <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>S. aureus</i> , koaguláza negatívny <i>Staphylococcus</i> , <i>Propionibacterium spp.</i> , <i>Nocardia spp.</i> , <i>M. tuberculosis</i> a ostatné/iné druhy, <i>B. burgdorferi</i> , <i>Leptospira spp.</i> , <i>T. pallidum</i> , <i>Brucella spp.</i>
Encefalitída	<i>L. monocytogenes</i> , <i>T. pallidum</i> , <i>Leptospira spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> , <i>Nocardia spp.</i> , <i>Borrelia spp.</i> , <i>R. rickettsii</i> , <i>C. burnetii</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>M. tuberculosis</i> a ostatné/iné druhy
Mozgový absces	<i>S. aureus</i>, <i>Fusobacterium spp.</i>, <i>Peptostreptococcus spp.</i>, iné anaeróbne koky , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , viridujúce streptokoky, <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i> , <i>Porphyromonas spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Nocardia spp.</i> , <i>Rhodococcus equi</i> , <i>M. tuberculosis</i> a iné druhy
Subdurálny empyém	<i>S. aureus</i>, <i>S. pneumoniae</i> , streptokoky skupiny B, <i>N. meningitidis</i> , zmiešané anaeróbne a aeróbne baktérie

2.1 Mikrobiologická diagnostika bakteriálnych infekcií centrálneho nervového systému - všeobecne

Mikrobiologická diagnostika bakteriálnych infekcií CNS si vyžaduje odber adekvátnej klinickej vzorky (treba vedieť, čo, ako a kedy odobrať), čo najrýchlejši jej transport vo vhodnom transportnom systéme do mikrobiologického laboratória, kde sa podrobí panelu laboratórnych vyšetrení založených na detekcii a identifikácii pôvodcu infekcie.

2.1.1 Klinický materiál

Tabuľka 2 Mikrobiologická laboratórna diagnostika bakteriálnych infekcií centrálneho nervového systému (modifikované podľa Murray et al., 2016).

Bakteriálne infekcie centrálneho nervového systému		
Vzorky	Transport vzoriek	Množstvo/objem vzoriek
Krv: bežná bakteriálna hemokultúra	Fľaša na kultiváciu krvi s nutričným médiom	Dospelí: 20 ml Deti: 5-10 ml Novorodenci: 1 ml
Ďalšie špecifiká: aseptický odber vzorky (pred odberom dezinfikovať kožu); odber 2-3 hemokultúr; každú vzorku krvi rozdeliť na polovicu a inokulovať do 2 fliaš s nutričným médiom		
Krv: intracelulárne baktérie (<i>Brucella</i> , <i>Francisella</i> , <i>Neisseria spp.</i>)	ako pri bežných hemokultúrach; lýzový centrifugačný systém	ako pri bežných hemokultúrach
Ďalšie špecifiká: rovnaké ako pri bežnej hemokultúre		
Krv: <i>Leptospira sp.</i>	Sterilná heparinizovaná skúmavka	1-5 ml
Ďalšie špecifiká: odber krvi má význam len počas prvého týždňa ochorenia;		
Likvor	Sterilná skúmavka so skrutkovacím uzáverom	Baktérie: 1-5 ml Mykobaktérie: čo najväčší možný objem, aký je možné odobrať
Ďalšie špecifiká: aseptický odber vzorky; okamžitý transport vzorky do laboratória; vzorka nesmie byť vystavená teplu ani chladu		

Ako odobratý klinický materiál na mikrobiologickú laboratórnu diagnostiku infekcií CNS slúži predovšetkým likvor a krv (tabuľka 2).

Likvor

V diagnostickom procese infekcií CNS zvlášť meningitídy zohráva kľúčovú úlohu okamžité mikroskopické vyšetrenie (fixovaný a farbený preparát odobratého likvoru) a biochemické vyšetrenie likvoru po jeho odbere lumbálnou punkciou.

Mikroskopické vyšetrenie likvoru, doplnené následne kultivačným vyšetrením predstavujú zlatý štandard včasnej diagnostiky meningitídy.

Vzorky likvoru by mali byť spracované hneď po odbere, pričom nesmú byť umiestnené v chlade ani v inkubátore. Po aseptickom odbere likvoru lumbálnou punkciou sa likvor umiestni do sterilnej skúmavky so skrutkovacím uzáverom a transportuje do mikrobiologického laboratória. V laboratóriu sa vzorka scentrifuguje a sediment sa použije na inokuláciu bakteriálnych kultivačných médií a prípravy preparátu zafarbeného podľa Grama na mikroskopické vyšetrenie. Pozitívny nález mikroorganizmov v mikroskopickom preparáte alebo kultivácii laboratórium ihneď oznámi lekárovi.

V prípade pozitívneho nálezu pyogénnej/purulentnej/hnisavej/septickej bakteriálnej meningitídy je likvor zakalený, čo možno vidieť už voľným okom, hneď pri jeho odbere lumbálnou punkciou. V likvore biochemicky nachádzame polynukleárnu pleocytózu (výrazný nárast polymorfonukleárných leukocytov, predovšetkým neutrofilov), vysokú proteínoráchiu (výrazný nárast proteínov), nízku glykoráchiu (pokles glukózy) a vysoký tlak likvoru. Menej markantné sú tieto zmeny v likvore v prípade pomaly rastúcich baktérií (napr. *M. tuberculosis* - tuberkulózna meningitída) alebo v prípade menej pyogénnych baktérií (napr. *L. monocytogenes* - listeriálna meningitída).

Odlišné sú zmeny v likvore aj pri asepticknej/seróznej meningitíde, kedy je likvor číry so zvýšením počtu mononukleárných leukocytov, a to lymfocytov s prevahou T-lymfocytov a monocytov (mononukleárna pleocytóza), ako aj s mierne zvýšeným obsahom proteínov. Hodnoty koncentrácie glukózy sú v norme, eventuálne majú tendenciu k zníženiu.

Zmeny v likvore ako odpoveď organizmu na infekciu CNS sú zosumarizované v tabuľke 3.

Tabuľka 3: Zmeny v likvore ako odpoveď organizmu na infekciu centrálného nervového systému (Goering et al., 2018).

Likvor	Bunky/ml	Proteíny (mg/dL)	Glukóza (mg/dL)	Príčiny
Fyziologicky	0-5	15-45	45-85	-
Aseptická/serózna meningitída alebo meningoencefalitída	100-1000 (hlavne mononukleáry)	mierne zvýšené (50-100)	normálna alebo znížená v prípade tuberkulózy, húb, leptospír	vírusy, tuberkulóza, leptospira, huby, mozgový absces
Septická/purulentná meningitída	200-20 000 (hlavne polymorfonukleáry - neutrofily)	zvýšené (>100)	znížená (<45)	baktérie, améby, mozgový absces

V určitých prípadoch existujú obmedzenia takejto včasnej laboratórnej diagnostiky meningitídy vtedy, keď odber likvoru lumbálnou punkciou je kontraindikovaný. Ide napr. o pacientov s papiloedémom (edém papily zrakového nervu), imunokompromitovaným stavom, alterovaným vedomím, fokálnymi neurologickými symptómami alebo kŕčmi a pod. V takýchto prípadoch je prioritne indikované CT vyšetrenie hlavy pred odberom likvoru lumbálnou punkciou, pacientovi je odobratá krv na hemokultivačné vyšetrenie a nasadená je empirická ATB liečba.

Krv

Kultivácia krvi – hemokultúra predstavuje jednu z najdôležitejších vyšetrovacích metód v mikrobiológii. Úspešnosť záchytu pôvodcu infekcie závisí od spôsobu

odberu vzorky krvi. Za jedného z najdôležitejších faktorov úspešnosti sa považuje objem odobratej krvi. Vo všeobecnosti platí, že v prípade dospelých je množstvo odobratej krvi cca 20 ml, u detí a novorodencov je proporcionálne menšie. Ďalším z faktorov úspešnej hemokultúry môže byť aj čas odberu krvi, a to v prípade tzv. intermitentnej septikémie, ktorá sa objavuje u pacientov s lokalizovanou infekciou. Keďže klinické prejavy sepsy sa objavujú cca 1 hodinu po tom, čo sa mikroorganizmy dostali do krvi, odporúča sa odber 3 vzoriek krvi, pričom prvé dve by mali byť odobraté ešte pred nasadením ATB liečby a tretia vzorka odobratá v náhodnom čase v priebehu 24 hodín. Po aseptickom odbere krvi sa väčšina krvných vzoriek očkuje hneď do transportných kultivačných systémov – fliaš na kultiváciu krvi obsahujúcich obohatený nutričný bujón. Na zvýšenie zachytnosti mikroorganizmov by každá hemokultúra mala byť naočkovaná do dvoch fliaš t.j. 10 ml krvi do 1 fľašky. V mikrobiologickom laboratóriu sa vzorky kultivujú pri teplote 37 °C a v pravidelných intervaloch sa kontrolujú. V prípade detekcie mikrobiálneho rastu nasleduje izolácia baktérií t.j. kultivácia baktérií v izolovaných kolóniách s ich následnou identifikáciou a testovaním antimikrobiálnej citlivosti. Väčšina sa detekuje do prvých 24 – 48 hodín kultivácie, avšak každá kultivácia krvi by mala trvať minimálne 5 – 7 dní. Mikroskopické vyšetrenie vzorky krvi zafarbenej podľa Grama hneď po jej odbere t.j. ešte pred hemokultiváciou, je obyčajne nevýznamné, a to z hľadiska malého množstva baktérií prítomných v krvi septických pacientov.

Biochemické laboratórne vyšetrenie krvi u pacienta s bakteriálnou meningitídou obyčajne poukáže na zvýšené až vysoké zápalové parametre ako sú FW a CRP, zmeny v krvnom obraze - leukocytózu (leukopénia je zlý prognostický parameter), prípadne aj trombocytopéniu alebo aj zmeny v koagulačnej kaskáde. V prípade bakteriémie/septikémie vyšetrenie krvi laboratórnymi mikrobiologickými metódami (hemokultivácia) odhalí aj pôvodcu ochorenia.

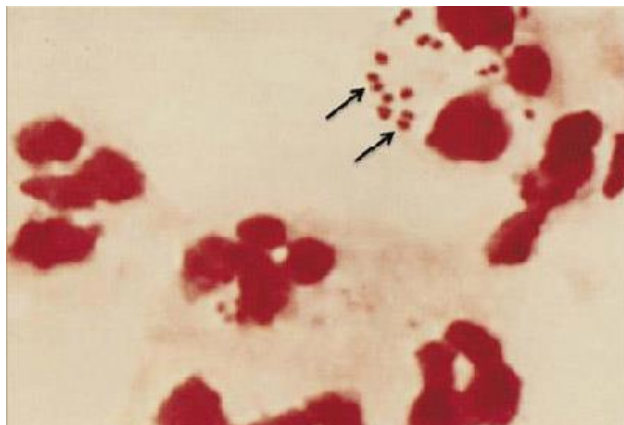
V súčasnosti vo vzťahu k diagnostike a diferenciálnej diagnostike infekcií CNS sa mnohé štúdie zaoberajú vyšetrovaním rôznych biochemických markerov ako sú napr. glukóza, proteíny a lyzozým v likvore, β -glukuronidáza, komplement C3, faktor B, sérový prokalcitonín a podobne, ktoré by mohli prispieť k včasnej diagnostike a následnej včasnej liečbe infekcií CNS.

2.1.2 Detekcia a identifikácia

Na detekciu a identifikáciu baktérií v klinických vzorkách sa využívajú nasledovné diagnostické metódy: priame - mikroskopia, kultivácia, dôkaz špecifických bakteriálnych antigénov, proteínov, dôkaz špecifickej bakteriálnej nukleovej kyseliny, biochemické testy a nepriame - dôkaz špecifických protilátok ako odpoveď organizmu na prítomnosť baktérií.

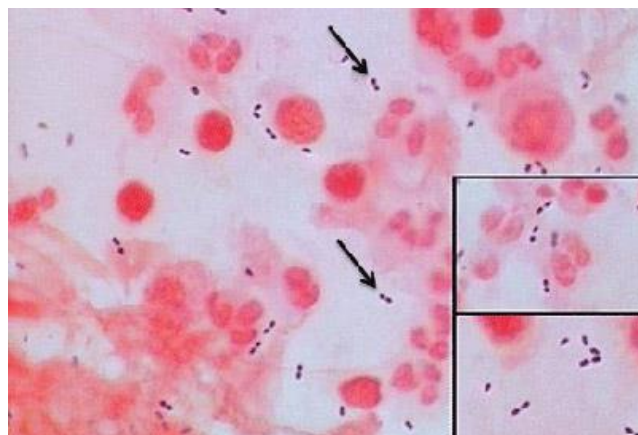
2.1.2.1 Mikroskopia

Mikroskopické vyšetrenie fixovaného preparátu odobratého likvoru, zafarbeného podľa Grama (plus iná špeciálna farbiaca metóda v prípade podozrenia na špecifickú infekciu ako napr. *Mycobacterium spp.*) v prípade infekcie CNS odhalí prítomnosť baktérií v likvore (obrázok 1 a obrázok 2). Prítomnosť akéhokoľvek množstva baktérií (hoci napr. aj len jednej baktérie) v likvore svedčí pre pozitívny nález infekcie, pretože likvor za normálnych okolností t.j. bez prítomnej infekcie je vždy sterilný – aseptický.



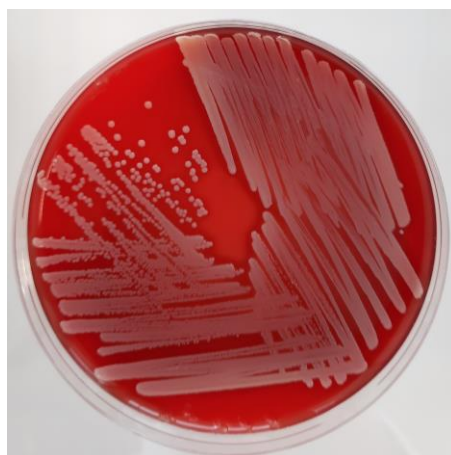
Obrázok 1 Mikroskopické vyšetrenie likvoru farbeného podľa Grama. Prítomné gramnegatívne diplokoky *Neisseria meningitidis* pri meningokokovej meningitíde.

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt06-culture-id.html>



Obrázok 2 Mikroskopické vyšetrenie likvoru farbeného podľa Grama. Prítomné grampozitívne diplokoky *Streptococcus pneumoniae* pri pneumokokovej meningitíde. <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt06-culture-id.html>

2.1.2.2 Kultivácia



Obrázok 3 Kultivácia *Staphylococcus aureus* na krvnom agare (Ústav mikrobiológie a imunológie JLF UK Martin)

Kultivačné vyšetrenie odobratého materiálu - likvoru na vhodnom kultivačnom médiu (najčastejšie krvný agar – obrázok 3 alebo čokoládový agar – obrázok 4

špecifický pre *Neisseria spp.* a *Haemophilus spp.*), ako aj odber krvi na hemokultivačné vyšetrenie, dokáže infekciu CNS na základe prítomnosti rastu charakteristických kolónií, ktoré sa následne podrobia panelu ďalších laboratórnych vyšetrení vrátane opäť mikroskopického vyšetrenia (mikroskopické vyšetrenie fixovaného preparátu z vyrastenej kolónie, zafarbeného podľa Grama).



Obrázok 4 Kultivácia *Haemophilus influenzae* na čokoládovom agare
<http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/37-haemophilus-chocolate-2-agar>

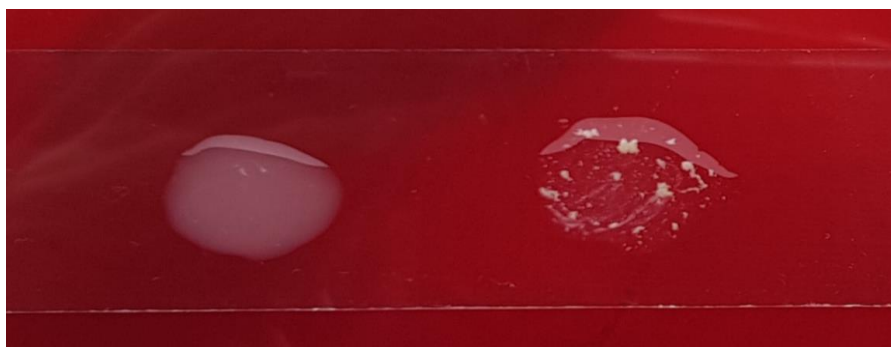
2.1.2.3 Biochemická analýza

Na identifikáciu baktérií izolovaných v kultúre sa obyčajne v diagnostických laboratóriách používajú biochemické testy. U baktérií popisujeme biochemické vlastnosti ako pozitivitu alebo negativitu na prítomnosť enzýmu, ktorý rozkladá substrát (napr. kataláza pozitívna/negatívna baktéria, koaguláza pozitívna/negatívna baktéria, oxidáza pozitívna/negatívna baktéria, laktóza pozitívna/negatívna baktéria atď.) alebo ako produkciu určitej látky (napr. tvorí/netvorí sírovodík). Ako príklady biochemických testov sú napr. katalázový test (obrázok 5), koagulázový test (obrázok 6), cytochrómoxidázový (oxidázový) test, štiepenie sacharidov a alkoholu, tvorba sírovodíka a podobne. Avšak biochemické testy v identifikácii baktérií môžu byť nahradené aj inými metódami,

ako sú napr. sekvenovanie špecifických bakteriálnych génov alebo MALDI-TOF MS.



Obrázok 5 Katalázový test na dôkaz enzýmu katalázy. Pozitívny katalázový test sa prejaví prítomnosťou bubliniek, kedy dôjde k premene peroxidu vodíka katalázou na vodu a kyslík (Ústav mikrobiológie a imunológie JLF UK Martin)

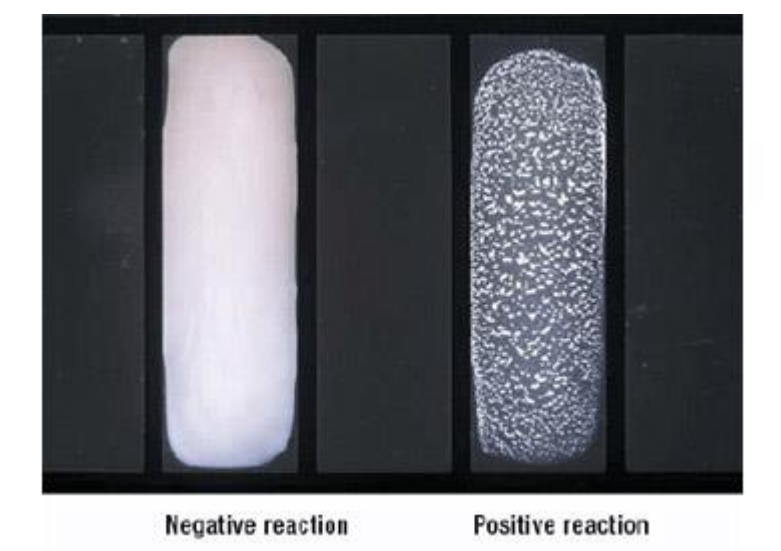


Obrázok 6 Koagulázový sklíčkový test na dôkaz enzýmu viazanej koagulázy. Pozitívny sklíčkový koagulázový test sa prejaví vznikom vlákien fibrínu pri premene fibrinogénu enzýmom koaguláza (Ústav mikrobiológie a imunológie JLF UK Martin)

2.1.2.4 Dôkaz antigénov

V diagnostike bakteriálnych infekcií CNS majú v súčasnosti široké uplatnenie aj ďalšie laboratórne vyšetровacie metódy, ktoré dopĺňajú mikroskopické vyšetrenie

preparátu zafarbeného podľa Grama a kultivačné vyšetrenie. Tieto diagnostické laboratórne metódy umožňujú detekovať mikrobiálne antigény v likvore, krvi alebo moči s použitím špecifických sér určených proti bežným kauzálnym patogénom. Umožňujú rýchlu diagnostiku bakteriálnej infekcie CNS predovšetkým u pacientov, ktorí dostali ATB liečbu ešte predtým ako im bola vykonaná lumbálna punkcia alebo v prípadoch, keď mikroskopické vyšetrenie preparátu zafarbeného podľa Grama nepreukázalo prítomnosť baktérií. Takto napr. imunoelektroforéza, ako aj enzýmová imunoanalýza (enzyme-linked immunosorbent assays - ELISA) boli nahradené **aglutinačnými** metódami ako je napr. latexová aglutinácia (komerčné kity), ktorá má jednoduché použitie a poskytuje výsledky v priebehu niekoľkých minút, ktoré však varujú v senzitivite a špecificite (obrázok 7).



Obrázok 7 Latexová aglutinácia. V prípade prítomnosti špecifického antigénu sa vytvorí viditeľný aglutinát. <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt06-culture-id.html>

2.1.2.5 Dôkaz nukleových kyselín

V súčasnosti štandardným diagnostickým vyšetrením je vyšetrenie likvoru **molekulárnymi** metódami ako je napr. polymerázová reťazová reakcia (PCR). Toto vyšetrenie výrazne zlepšilo diagnostiku a liečebný menežment bakteriálnej

meningitídy. U pacientov, ktorým bola nasadená antimikrobiálna liečba ešte pred lumbálnou punkciou, môžu byť výsledky mikroskopického a kultivačného vyšetrenia likvoru falošne negatívne, pričom PCR metóda napriek ATB liečbe odhalí pôvodcu ochorenia. Použitie mutiplexnej PCR metódy dokáže odhaliť naraz niekoľko najčastejších pôvodcov meningitídy akými sú napr. *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, streptokoky skupiny B, *S. aureus*, HSV-1/2, varicella zoster vírus (VZV) atď. PCR metóda má vysokú senzitivitu (95% - 100%) a špecificitu (99,1% - 99,7%) s presným výsledkom do niekoľko hodín.

2.1.2.6 Dôkaz protilátok

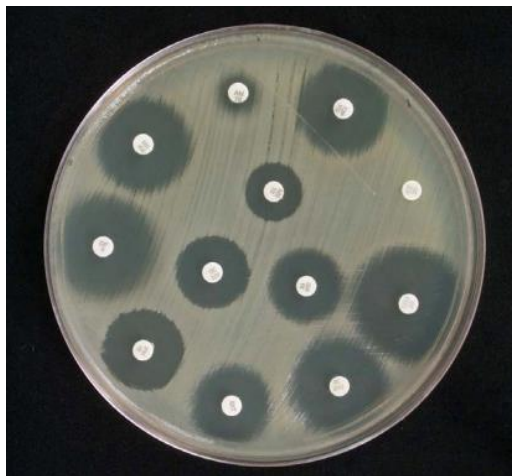
Metódy nepriameho dôkazu CNS infekcie predstavujú vždy dôkaz špecifických protilátok v sére alebo v mozgovomiešnom moku. Jedná sa o metódy ako ELISA, IF, aglutinačné metódy, Western blot, KFR atď.

Významné príklady použitia dôkazu protilátok v bakteriológii pri postihnutí CNS zahŕňajú: *Bordetella pertusis* (*B. pertusis*), *Borrelia spp.*, *Brucella spp.*, *Francisella tularensis* (*F. tularensis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), *M. pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *T. pallidum*.

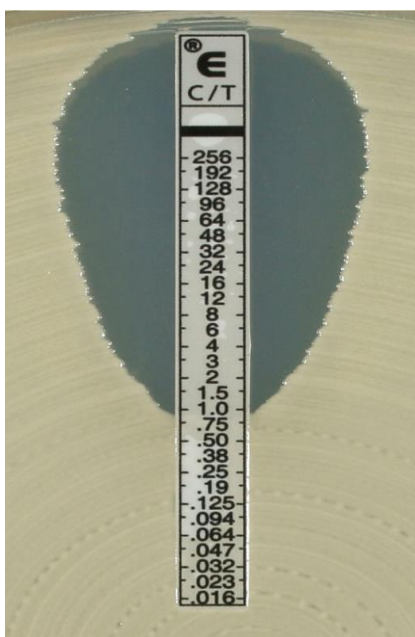
2.1.2.7 Stanovenie citlivosti na antibiotiká

Stanovenie citlivosti mikroorganizmu na antimikrobiálne pôsobiace látky v podmienkach *in vitro* umožňuje selektívny výber antimikrobiálnych látok účinných proti pôvodcovi infekcie. Výber účinného ATB závisí nielen od výsledku testov pre stanovenie citlivosti, ale aj od ďalších faktorov, ako sú napríklad farmakokinetické vlastnosti ATB, jeho toxicita, klinické ochorenie a celkový stav pacienta. Na stanovenie citlivosti baktérií na antimikrobiálne pôsobiace látky sa používajú dva druhy testov, a to dilúčne a difúzne. Dilúčne testy sú založené na niekoľkonásobnom riedení antibiotika v nutričnom médiu (bujóne) v skúmavke alebo v mikrotitračnej doštičke s následnou inokuláciou vyšetrovanej baktérie o štandardizovanej koncentrácii. Po cca 24 hodinovej inkubácii, najnižšia

koncentrácia ATB, ktorá inhibovala rast baktérií, je považovaná za minimálnu inhibičnú koncentráciu (MIC).



Obrázok 8 Stanovenie citlivosti testovanej baktérie na antibiotiká pomocou difúzneho diskového testu. <https://clsi.org/about/blog/implementation-of-the-clsi-method-for-direct-disk-diffusion-testing-from-positive-blood-cultures/>



Obrázok 9 Stanovenie citlivosti testovanej baktérie na antibiotiká pomocou difúzneho E- testu. <https://www.biomerieux-microbio.com/new-etest-ceftolozane-tazobactam-c-t-256-mic-determination-helps-optimize-therapy-for-serious-infections/>

Difúzne testy využívajú agarózne médiá v sklenených platniach, na ktoré sa naočkuje baktéria o štandardizovanej koncentrácii s následným použitím papierového disku – difúzny diskový test (obrázok 8) alebo stripu-prúžku – E-test (obrázok 9) impregnovaného špecifickým ATB, ktoré sa umiestni na povrch agarového média. Po cca 24 hodinovej inkubácii, sa pozoruje prítomnosť resp. neprítomnosť vytvorenia zóny inhibície rastu v okolí disku alebo stripu. Veľkosť zóny inhibície rastu korešponduje s aktivitou ATB tzn. čím väčšia zóna inhibície rastu, tým je mikroorganizmus viac citlivejší na dané ATB. Zóna inhibície rastu korešponduje s hodnotou MIC.

2.2 Pôvodcovia bakteriálnych infekcií centrálneho nervového systému a ich laboratórna diagnostika

2.2.1 Grampozitívne baktérie

2.2.1.1 Grampozitívne fakultatívne anaeróbne koky

Staphylococcus

Stafylokoky sú grampozitívne, fakultatívne anaeróbne baktérie a oportúnne patogény, ktoré predstavujú významnú súčasť fyziologickej mikroflóry kože a slizníc. Najvýznamnejšími druhmi rodu *Staphylococcus* sú *S. aureus* a *S. epidermidis*. Môžu byť pôvodcami rôznych infekcií od menej závažných až po život ohrozujúce. Z hľadiska postihnutia CNS je to stafylokoková meningitída a ohraničené ložiskové infekcie CNS. Stafylokoková meningitída sa najčastejšie vyskytuje ako súčasť generalizovanej hematogénnej infekcie obyčajne u starších pacientov alebo u pacientov so závažným základným ochorením ako sú napríklad postneurochirurgickí, posttraumatickí pacienti, pacienti s CNS shuntom a pacienti s ďalšími pridruženými ochoreniami ako diabetes mellitus, alkoholizmus, chronická renálna insuficiencia vyžadujúca si hemodialýzu a malignity. Iné zdroje stafylokokovej meningitídy získanej v komunite predstavujú pacienti so sínusitídou, osteomyelitídou a pneumóniou. Mortalita varíruje v rozmedzí 14 – 77%.

Staphylococcus aureus

S. aureus (zlatý stafylokok) je grampozitívny, fakultatívne anaeróbny kok vytvárajúci charakteristické usporiadania do skupín kokov pripomínajúcich strapce hrozna. Je významným oportúnnym patogénom zodpovedným za širokú škálu hnisavých infekcií vrátane CNS, ktoré sa vyznačujú tvorbou ložiskových ohraničených hnisavých procesov (mozgový absces, subdurálny empyém a epidurálny absces), ako aj vysokým rizikom vzniku bakteriémie a sepsy a postihnutím CNS vo forme meningitídy. Problémom je rezistencia na metilín tzv. metilín-rezistentný *Staphylococcus aureus* (MRSA) a/alebo vankomycín tzv. vankomycín-rezistentný *Staphylococcus aureus* (VRSA) a asymptomatické nosičstvo MRSA.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na mikroskopii a kultivácii. Podrobná diagnostika je možná pomocou biochemických testov a hmotnostnej spektrometrie. Ako klinický materiál pri postihnutí CNS sa odoberá likvor, krv na hemokultúru pri infekcii krvného riečiska a punktát z abscesu. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama vidíme grampozitívne koky s charakteristickým usporiadaním do nepravidelných zhlukov. Kultivuje sa na krvnom agare, na ktorom rastie v žltosfarbených kolóniách obklopených beta-hemolýzou. Rastie aj na špeciálnej selektívno-diagnostickej pôde pre stafylokoky manit-slaný agar, kde fermentuje manitol, čo sa prejaví zmenou farby pôdy do žltá. Ako aj ostatné stafylokoky je kataláza pozitívny t.j. má schopnosť produkcie enzýmu katalázy, čo sa prejaví vznikom bubliniek v reakcii s peroxidom vodíka. *S. aureus* je plazmakoaguláza pozitívny t.j. produkuje enzým plazmakoagulázu – viazanú aj voľnú. Dôkaz produkcie plazmakoagulázy sa používa na jeho odlíšenie od plazmakoaguláza negatívnych stafylokokov. Viazaná plazmakoaguláza sa dokazuje sklíčkovou metódou reakciou s králičou plazmou, kedy v prípade positivity sú viditeľné biele zhluky fibrínu. Na dôkaz voľnej plazmakoagulázy sa používa skúmavková metóda - reakcia s králičou plazmou, kedy pozitívny dôkaz korešponduje s vytvorením koagula.

Liečba stafylokokových infekcií nie je jednoduchá z dôvodu existencie rezistentných kmeňov MRSA a VRSA, preto stanovenie ATB citlivosti je veľmi dôležité. V liečbe sa používajú systémovo podávané protistafylokokové ATB.

V prípade penicilín rezistentného *S. aureus* sa podáva oxacilín (derivát meticilínu). Pri MRSA rezistencii sa podáva glykopeptid – vankomycín, v prípade VRSA rezistencie oxazolidinón – linezolid.

Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus epidermidis (*S. epidermidis*) je grampozitívny, fakultatívne anaeróbny kok vytvárajúci charakteristické usporiadania do skupín kokov pripomínajúcich strapce hrozna. Je to oportúnny patogén, ktorý za určitých okolností môže byť pôvodcom vážnych infekcií. Z hľadiska CNS sa považuje za najčastejšieho pôvodcu meningitídy u pacientov s CNS shuntom.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na mikroskopii a kultivácii. Klinickým materiálom je likvor, pri infekcii krvného riečiska sa odoberá krv na hemokultúru. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama sú prítomné grampozitívne koky s charakteristickým usporiadaním do nepravidelných zhhlukov. Kultivuje sa na krvnom agare, kde rastie v bielych kolóniách bez hemolýzy. Rastie aj na špeciálnej selektívno-diagnostickej pôde pre stafylokoky manit-slanom agare, kde nefermentuje manitol (nedôjde k zmene farby pôdy na žltú). Ako aj ostatné stafylokoky je kataláza pozitívny t.j. schopný produkcie enzýmu katalázy, čo sa prejaví vznikom bubliniek v reakcii s peroxidom vodíka. Je plazmakoaguláza negatívny t.j. neprodukuje enzým plazmakoagulázu – ani viazanú ani voľnú, preto patrí medzi tzv. koaguláza negatívne stafylokoky. Podrobná identifikácia koaguláza negatívnych stafylokokov využíva biochemické testy alebo hmotnostnú spektrometriu. K rozlíšeniu jednotlivých druhov koaguláza negatívnych stafylokokov môže poslúžiť aj test rezistencie voči ATB novobiocínu, kde *S. epidermidis* je na tento test citlivý.

V prípade citlivosti sa v liečbe používa beta-laktamáza-rezistentný PNC – oxacilín. V prípade rezistencie je to glykopeptid – vankomycín. Rezervným ATB je oxazolidinón – linezolid.

Streptococcus

Streptokoky sú grampozitívne, fakultatívne anaeróbne baktérie, ktoré sú z hľadiska patogénneho pôsobenia pôvodcami rôznych infekcií, vrátane infekcií CNS. Klasifikácia streptokokov nie je jednotná a zahŕňa klasifikáciu podľa

sérologických vlastností - klasifikácia podľa Lancefieldovej zahrňuje skupiny A-U, najdôležitejšie streptokoky skupiny A (group A streptococci - GAS) a streptokoky skupiny B (group B streptococci - GBS) a podľa typu hemolýzy na krvnom agare - beta-hemolytické a non-beta-hemolytické (alfa-hemolytické a gama-hemolytické) streptokoky.

Streptococcus pyogenes

S. pyogenes (GAS/beta-hemolytický streptokok skupiny A podľa Lancefieldovej klasifikácie - HSA) je grampozitívny, fakultatívne anaeróbny kok, ktorý v mikroskopickom preparáte pripravenom z tekutého kultivačného média vytvára typické retiazky. Je jedným z najčastejších ľudských patogénov tradične uvádzaný ako primárny patogén, môže však aj kolonizovať. Je pôvodcom hnisavých infekcií slizníc hlavne respiračného traktu, kože a mäkkých tkanív, ako aj nehnisavých následkov neliečenej alebo zle liečenej streptokokovej infekcie – reumatickej horúčky a akútnej glomerulonefritídy. V prípade postihnutia CNS môže byť pôvodcom aj streptokokovej meningitídy, ktorej príčinou býva fokus v mandliach alebo prínosových dutinách, odkiaľ sa môže hematogénne pri bakteriémii alebo priamou inváziou dostať do CNS a infikovať obaly mozgu alebo miechy. Kmene *S. pyogenes* produkujúce erytrogénny toxín vyvolávajú šarlach (scarlatina), čo môže spôsobiť aj toxické poškodenie CNS pod obrazom septickej alebo častejšie aseptickkej meningitídy s postihnutím bazálnych ganglií a mozgu zápalovým encefalitickým procesom.

Klinickým materiálom pri postihnutí CNS je odobratý likvor, nutný je aj odber hemokultúry. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama vidíme grampozitívne koky vytvárajúce rôzne dlhé retiazky. Na kultiváciu sa používa krvný agar, kde vytvára malé bledé kolónie obklopené širokou zónou beta-hemolýzy (úplnej hemolýzy). Na odlíšenie beta-hemolytického streptokoka skupiny A od ostatných beta-hemolytických streptokokov sa používa bacitracínový test (*S. pyogenes* je citlivý, test je pozitívny – prítomná zóna inhibície rastu okolo disku impregnovaného bacitracínom) alebo CAMP test (test pre *S. pyogenes* je negatívny). Ako aj ostatné streptokoky je kataláza-negatívny (neprítomnosť bubliniek v reakcii s peroxidom vodíka) a nedokáže rásť na pôde s eskulínom. Pri

cerebrálnych komplikáciách býva v likvore pleocytóza, v sére je pozitívita na antistreptolýzín O (ASLO).

Pri závažných infekciách ako je v prípade CNS meningitída je liekom voľby základný kryštalický PNC G aplikovaný parenterálne, často v kombinácii s linkosamidom - klindamycínom. Ako alternatíva v prípade alergie na PNC sa používajú makrolidy – hlavne klaritromycín alebo linkosamidy – klindamycín.

Streptococcus agalactiae

S. agalactiae (GBS/beta-hemolytický streptokok skupiny B podľa Lancefieldovej klasifikácie - HSB) je grampozitívny, fakultatívne anaeróbny kok, ktorý v mikroskopickom preparáte pripravenom z tekutého kultivačného média vytvára typické retiazky. Pomerne často sa vyskytuje ako komenzál na slizniciach vagíny a rekta - bežné je vaginálne a rektálne nosičstvo. Jeho patogénny potenciál sa uplatňuje hlavne u novorodencov po pôrode v prípade nosičstva u matky. Pozorované sú dva syndrómy, a to septická reakcia s rýchlym priebehom a vysokou úmrtnosťou (50%) simulujúca syndróm respiračnej tiesne a meningitický syndróm (hnisavá meningitída) v neonatálnom období. Meningitída spôsobená streptokokmi skupiny B je spojená s vysokou mortalitou (20%) rovnako ako aj iné formy novorodeneckej meningitídy. Infekcia môže prebiehať dvomi spôsobmi ako včasná alebo neskorá. Včasná infekcia vzniká in utero pri predčasnom odtoku plodovej vody alebo v priebehu pôrodu a viac ohrozuje nedonosných novorodencov. Neskorá infekcia nastáva aj niekoľko týždňov po pôrode v dôsledku prenosu infekcie z prostredia.

Pri novorodeneckej meningitíde a septe sa odoberá ako klinický materiál likvor, hemokultúra, prípadne aj plodová voda, mekónium, stery zo spojiviek alebo ústnej a nosovej dutiny. Dôkaz *S. agalactiae* je založený na mikroskopii a kultivácii. Cerebrospinálny mok je zakalený so zvýšenou polynukleárnou pleocytózou a pozitivitou baktérií. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama sú grampozitívne koky. Rastie na krvnom agare vo forme kolónií, ktoré sú obklopené úzkou zónou beta-hemolýzy (úplnej hemolýzy). Podľa Lancefieldovej klasifikácie patrí medzi GBS. Tak ako všetky ostatné streptokoky nerastie na pôde s eskulínom a rovnako je kataláza-negatívny. Na jeho identifikáciu sa používa CAMP test. Produkuje CAMP faktor, ktorý zosilňuje beta-hemolýzu laboratórneho

kmeňa *S. aureus*, čo sa na krvnom agare prejaví vznikom hemolýzy v tvare motýľích krídel resp. v tvare mašličky. Senzitivita kultivačného a mikroskopického vyšetrenia je vyššia ako detekcia antigénu. PCR z likvoru sa používa na rýchlu diagnostiku v prípade meningitídy.

S. agalactiae je citlivý na PNC G, ktorý je liekom voľby. Alternatívne sa môže podať ampicilín, klindamycín alebo vankomycín. V prípade positivity GBS v tehotenstve sa profylakticky podávajú počas pôrodu i.v. ATB (PNC G, alternatívne ampicilín).

Preveniou infekcie je skríning u žien počas tehotenstva, kedy sa odoberá ster z vaginálnej sliznice medzi 35. – 38. gestačným týždňom na kultivačné vyšetrenie, CAMP test a identifikácia latexovou aglutináciou (LA). PCR je možnou alternatívou pro vyšetrenie nosičstva.

Streptococcus pneumoniae

S. pneumoniae (pneumokok) je grampozitívny, fakultatívne anaeróbny kok oválneho lancetovitého tvaru, usporiadaný do dvojíc – diplokok so schopnosťou tvoriť púzdro. Z medicínskeho hľadiska je to významná baktéria, ktorá spolu so streptokokmi ústnej dutiny a nepatogénnymi neisseriami tvorí súčasť bežnej mikroflóry orofaryngu. Nosičstvo *S. pneumoniae* sa môže vyskytovať na sliznici nazofaryngu u zdravých detí aj dospelých, čo predstavuje cca 10% zdravej populácie, u detí do 5 rokov viac ako 50%. *S. pneumoniae* má schopnosť tvoriť púzdro. Neopúzdrené kmene sú častými pôvodcami menej závažných komunitných infekcií, naopak opúzdrené kmene sú pôvodcami veľmi závažných až životohrozujúcich infekcií, ktorých príkladom je z hľadiska postihnutia CNS hnisavá meningitída. *S. pneumoniae* patrí medzi najčastejších pôvodcov hnisavej meningitídy v skupinách kojencov, batoliat a malých detí; adolescentov a dospelých (spolu s *N. meningitidis*); seniorov a imunokompromitovaných pacientov (spolu s *L. monocytogenes*). Môže byť príčinou aj meningitídy spôsobenej následkom úrazu hlavy.

Ako klinický materiál v mikrobiologickej laboratórnej diagnostike pneumokokovej meningitídy sa využíva likvor získaný lumbálnou punkciou, krv na hemokultúru a aj moč na detekciu antigénov. V mikroskopickom preparáte z likvoru

zafarbenom podľa Grama vytvára charakteristické grampozitívne dvojice - diplokoky lancetovitého tvaru a polymorfonukleárne leukocyty (PMNL). Na dôkaz púzdrového polysacharidového antigénu sa používa rýchly test pomocou sklíčkovej latexovej aglutinácie. Pri farbení preparátu Burriho tušovou metódou je možné dokázať prítomnosť polysacharidového púzdra (bezfarebné púzdro obklopujúce telo baktérie). Na vyšetrenie likvoru sa používajú molekulárne biologické metódy ako PCR. Na kultiváciu sa používa krvný agar, kde rastie v zelenohnedých kolóniách obklopených úzkym lemom alfa-hemolýzy (neúplnej hemolýzy/viridácie). Na odlíšenie *S. pneumoniae* od ostatných alfa-hemolytických streptokokov, ktoré sú fyziologickou mikroflórou dutiny ústnej sa používa optochínový test (v prípade *S. pneumoniae* je pozitívny – prítomná zóna inhibície rastu okolo disku impregnovaného optochínom) alebo test rozpustnosti v žlči (v prípade *S. pneumoniae* je pozitívny – lýza *S. pneumoniae* pôsobením deoxycholátu sodného; priesačný obsah skúmavky). Ako aj ostatné streptokoky je kataláza-negatívny (neprítomnosť bubliniek v reakcii s peroxidom vodíka) a nedokáže rásť na pôde s eskulínom.

S. pneumoniae je citlivý na penicilíny (PNC) - PNC G, amoxicilín, cefalosporíny II. a III. generácie a chloramfenikol.

Súčasťou prevencie je očkovanie u detí, ktoré sa v súčasnosti odporúča aj seniorom, chronicky chorým a imunokompromitovaným jedincom.

2.2.1.2 Grampozitívne anaeróbne koky

Táto skupina zahŕňa grampozitívne anaeróbne koky viacerých rodov, vrátane rodov *Peptococcus* a *Peptostreptococcus*, schopné tvoriť silné imunogénne puzdro. Mnohé druhy sú súčasťou normálnej mikroflóry kože, ústnej dutiny, GITu, a vagíny, ale ako oportúnne patogény môžu byť pôvodcami anaeróbných často polymikrobiálnych infekcií v týchto lokalizáciách a môžu vyvolať pri hematogénnom šírení aj mozgový absces a sepsu. Rizikovou skupinou sú imunokompromitovaní jedinci.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa zakladá na priamom dôkaze, a to mikroskopii (grampozitívne koky) a anaeróbnej kultivácii. Dôležitý je správny

odber infekčného materiálu s podozrením na anaeróbnú infekciu a jeho rýchly transport v anaeróbnom systéme do laboratória. Kultivuje sa za anaeróbných podmienok t.j. anaeróbná kultivačná pôda a anaeróbná atmosféra.

Empirická liečba zahŕňa PNC G, aminopenicilíny, ureidopenicilíny alebo karbapenémy. Z linkosamidov je možné podať aj klindamycín. Podľa výsledku testu citlivosti na ATB sa podáva cielená ATB liečba. Veľmi dôležité je aj chirurgické riešenie abscesu.

2.2.1.3 Grampozitívne sporulujúce fakultatívne anaeróbne paličky

Bacillus anthracis

Bacillus anthracis (*B. anthracis*) je grampozitívna, opúzdrená sporulujúca fakultatívne anaeróbná obligátna palička, ktorá sa vyskytuje ako saprofyt pôdy vo forme spór. Je pôvodcom ochorenia zoonózy - antrax. Ide o ochorenie bylinožravcov, ktorí sa nakazia zo spór v tráve a sami potom vylučujú spóry do prostredia. Ochorenie sa prenáša spórami z infikovaných zvierat alebo ich produktov na človeka kontaktom cez kožu, inhaláciou cez respiračný systém alebo ingesciou cez GIT. Podľa cesty prenosu sa rozlišujú 3 formy antraxu – kožná, pľúcna a gastrointestinálna (črevná). Príznaky súvisia s formou ochorenia, ktoré sa spája s tvorbou hemoragických nekróz. Najzávažnejšia je pľúcna forma, ktorá sa spája s najvyššou úmrtnosťou. V prípade bakteriémie môže dôjsť aj k postihnutiu CNS, kedy výskyt hemoragickej pustuly obyčajne súvisí so vznikom purulentnej meningoencefalitídy.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika využíva metódy priameho dôkazu – mikroskopiu, kultiváciu, PCR, imunofluorescenciu. Odber biologického materiálu závisí od formy antraxu. Pri postihnutí CNS sa odoberá likvor a krv na hemokultúru. Pri manipulácii so vzorkou, ktorá sa vyšetruje v špecializovaných laboratóriách je potrebné dodržať bezpečnostné opatrenia – biosafety level 3 (BSL 3). V mikroskopickom preparáte farbenom podľa Grama sú viditeľné grampozitívne mohutné paličky usporiadané jednotlivito alebo do dvojíc alebo rôzne dlhých retiazok. Prítomnosť spór možno znázorniť špeciálnym farbením podľa Witz-Conklina. Spóry sú uložené centrálnne, nedeformujú telo baktérií, sú

odolné schopné prežiť v nepriaznivých podmienkach v pôde aj niekoľko desiatok rokov. Kultivácia je nenáročná, rastie rýchlo na krvnom agare vo forme nepravidelných matných až suchých kolónií s nerovnými okrajmi resp. výbežkami bez hemolýzy. Tvar kolónií sa označuje caput Medusae, pretože pripomínajú hlavu Medúzy. Toxíny je možné dokázať imunologicky. Skvapalňuje želatínu. Proteín puzdra možno dokázať termoprecipitačnou metódou podľa Ascoliho.

Liekom voľby je PNC G. ATB citlivosť zahŕňajú aminopenicilíny, fluorochinolóny – ciprofloxacín, makrolidy – erytromycín, klaritromycín, linkosamidy – klindamycín a tetracyklíny – doxycyklín. V závažných klinických prípadoch ako je napr. bakteriémia s postihnutím CNS sa podáva kombinovaná ATB liečba (PNC G s fluorochinolónmi alebo makrolidmi).

Prevenciou je veterinárna kontrola zvierat a ich očkovanie.

Nebezpečenstvom je možné zneužitie antraxu ako biologickej zbrane alebo v bioterorizme.

2.2.1.4 Grampozitívne sporulujúce anaeróbne paličky

Clostridium

Klostrídie sú grampozitívne, anaeróbne, sporulujúce paličky, vyskytujúce sa ako saprofyty v prírode, predovšetkým v pôde vo forme spór, niektoré ako súčasť fyziologickej mikroflóry hrubého čreva zvierat aj človeka. U ľudí môžu byť pôvodcami infekcií exogénneho alebo endogénneho pôvodu, najčastejšie vo forme zmiešaných aeróbne-anaeróbnych. Poškodenie organizmu ako aj CNS, spôsobujú prostredníctvom produkcie enzýmov, ale predovšetkým toxínov.

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens (*C. perfringens*) je grampozitívna, anaeróbna, nepohyblivá sporulujúca palička, patriaca do skupiny tzv. histotoxických klostrídií. Spôsobuje preto infekcie vedúce k poškodeniu tkanív, ktoré môže byť až devastáčne a životohrožujúce. Je častou súčasťou črevnej mikroflóry. Spôsobuje infekcie mäkkých tkanív (celulitída, nekrotizujúca fasciitída, myonekróza až gangrena

emphysematosa - plynová gangréna). Môže byť pôvodcom aj infekcií z kontaminovaných potravín ako enterotoxikózy a životohrozujúcej nekrotizujúcej enteritídy. Do organizmu sa dostáva pri poranení cez spóry z prostredia, ale môže byť pôvodcom aj infekcie endogénneho pôvodu z vlastnej mikroflóry. Čo sa týka postihnutia CNS, môže spôsobiť neuroinfekciu v dôsledku infikovaných penetrujúcich poranení hlavy alebo miechy v podobe abscesov alebo empyémov, zriedkavo ako komplikácia po neurochirurgickom zákroku.

Keďže ide o anaeróbnu baktériu, odber, transport a mikrobiologická laboratórna diagnostika musia byť realizované za dodržania anaeróbných podmienok. V praxi sa využíva priamy mikrobiologický dôkaz – mikroskopia a anaeróbná kultivácia. V mikroskopickom preparáte farbenom podľa Grama vidíme grampozitívne paličky. Na dôkaz spór používame špeciálne farbenie podľa Wirtz-Conklina. Spóry sú oválne, uložené subterminálne a nedeformujú telo baktérie. Kultivácia je za anaeróbných podmienok, rastie na krvnom agare, kde spôsobuje dvojité hemolýzu.

Liekom voľby je základný PNC - PNC G v kombinácii s linkosamidom – klindamycínom. Alternatívnou liečbou je PNC G v kombinácii s nitroimidazolom – metronidazolom. Pri alergii na PNC sa podáva karbapeném – imipeném s klindamycínom alebo metronidazolom.

Clostridium tetani

Clostridium tetani (*C. tetani*) je grampozitívna, anaeróbná, sporulujúca, pohyblivá palička, patriaca do skupiny tzv. neurotoxických klostrídií, ktoré produkujú neurotoxíny a vedú k poškodeniu nervového tkaniva. *C. tetani* sa nachádza ako saprofyt v črevách niektorých cicavcov, predovšetkým koní. Cez výkaly sa môže dostať do pôdy, kde v podobe spór môže prežiť niekoľko desiatok rokov. K infekcii dochádza pri kontaminácii rany najčastejšie pri poranení. Na podklade produkcie neurotoxínu tetanospazmínu spôsobuje neuromuskulárne ochorenie tetanus. Prienikom tetanospazmínu do CNS hematogénnou alebo lymfatickou cestou alebo vzostupným šírením cez periférne nervy do miechy dochádza k blokáde uvoľňovania inhibičných mediátorov na inhibičných miechových synapsách a vzniku svalových spazmov – tonických kŕčov (trismus, risus sardonicus,

laryngospazmus, opistotonus, poruchy autonómneho nervového systému – poruchy regulácie teploty, potenía, krvného tlaku).

Mikrobiologické laboratórne vyšetrenie môže potvrdiť diagnózu, ale má nízku senzitivitu (môže byť falošne negatívne), preto sa diagnostika opiera predovšetkým o anamnézu a klinický obraz. Keďže ide o anaeróbnú baktériu, odber, transport a laboratórna diagnostika musia byť realizované za dodržania anaeróbných podmienok. V mikroskopickom preparáte farbenom podľa Grama môžeme vidieť grampozitívne paličky, na znázornenie spór používame špeciálne farbenie podľa Wirtz-Conklina. Spóry sú uložené terminálne a deformujú telo baktérie, baktéria pripomína paličku na bubon alebo špendlík s hlavičkou alebo tenisovú raketu. Kultivácia za striktných anaeróbných podmienok (slabá hemolýza, tenký povlak na povrchu celej plochy agaru, plazivý rast), dôkaz produkcie enzýmov a toxínov sa v praxi využívajú len ojedinele. Biochemická aktivita je slabá.

V ATB liečbe sa indikuje základný PNC - PNC G alebo nitroimidazol – metronidazol. Treba zistiť, kedy bol jedinec očkovaný proti tetanu a podľa toho zvážiť aj jednu dávku očkovacej látky (toxoidu), prípadne aj antitetanického imunoglobulínu.

Prevenciou infekcie je povinné očkovanie u detí, preočkovanie vo veku 25 rokov a následne každých 10 – 15 rokov.

2.2.1.5 Grampozitívne nesporulujúce fakultatívne anaeróbne paličky

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes je grampozitívna, fakultatívne anaeróbna, nesporulujúca palička, bežne prítomná vo vode, pôde a zvieracích exkrementoch. Ako oportúnny patogén je pôvodcom ochorenia – zoonózy nazývanej listerióza. Človek sa nakazí od infikovaných zvierat najčastejšie po ingescii kontaminovaných alebo nedostatočne tepelne upravených potravín ako sú zrejúce syry, mliečne výrobky z nepasterizovaného mlieka, mäsové výrobky. Zdrojom infekcie môžu byť už aj hotové kontaminované jedlá uchovávané dlhšie v chladničke, keďže listérie sú

schopné rásť aj pri chladničkovvej teplote. Rizikovou skupinou sú imunokompromitovaní jedinci a novovorodenci. U imunokompromitovaných jedincov infekcia prebieha ako invazívne septické ochorenie s primárnou bakteriémiou alebo purulentnou meningitídou, vzácne aj vo forme mozgového abscesu. Listeriôza u tehotných žien môže byť asymptomatická alebo sa prejavuje horúčkovitým ochorením sprevádzaným bolesťami svalov a kĺbov s možným transplacentárnym prenosom a rizikom neonatálnej infekcie, ktorej dôsledkom môže byť potrat, predčasný pôrod alebo porucha organogenézy s malformáciami aj CNS. Rozlišujeme dve formy infekcie novorodencov, a to včasnú (early-onset syndrome; vrodená listeriôza) a neskorú (late-onset syndrome). Včasná infekcia vzniká intrauterinne prenosom infekcie transplacentárne z infikovanej matky na plod s rozvojom sepsy. Môže mať za následok vážne devastačné letálne postihnutie novorodenca označované ako granulomatosis infantiseptica, charakterizované tvorbou mnohopočetných granulomatóznych abscesov v orgánoch vrátane mozgu. Neskorá infekcia vzniká prechodom novorodenca cez infikované pôrodné cesty matky, prípadne aj cez infikované ruky personálu. Vzniká 5 - 7 dní po pôrode ako purulentná meningitída alebo sepsa. Deti, ktoré prežijú môžu mať trvalé následky z poškodenia CNS.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa zakladá na priamom dôkaze listérií pomocou mikroskopie, kultivácie, PCR a MALDI-TOF MS. Ako biologický materiál sa odoberajú hemokultúry a likvor, u novorodencov aj plodová voda, stery z placenty, mekónium, výtery z nosa, ústnej dutiny, spojoviek a pôrodných ciest. Pri mikroskopickom vyšetrení preparátu farbenom podľa Grama sú prítomné grampozitívne krátke paličky označované aj ako kokobacily. Listérie sú kultivačne nenáročné, rastú na krvnom agare v drobných sivastých kolóniách, virulentné kmene s úzkou zónou beta-hemolýzy. *L. monocytogenes* kultivovaná pri izbovej teplote 18 - 25 °C je pohyblivá s viditeľným charakteristickým kotrmelcovitým pohybom v natívnom mikroskopickom preparáte. Pri kultivácii v termostate pri teplote 37 °C sa pohyblivosť stráca. Je kataláza pozitívna. Molekulárne metódy ako PCR sa používajú v rámci rýchlej diagnostiky meningitídy z klinického materiálu. V diagnostike možno použiť aj MALDI-TOF MS.

Liekom voľby je ampicilín prípadne v kombinácii s gentamicínom. Alternatívou sú kotrimoxazol a karbapenémy – meropeném. Listérie sú rezistentné na

cefalosporíny všetkých generácií. Prevenciou infekcie je správna príprava jedál a správne skladovanie potravín.

2.2.1.6 Grampozitívne nesporulujúce aeróbne paličky

Nocardia spp.

Nokardie sú grampozitívne nesporulujúce, striktne aeróbne paličky nachádzajúce sa v pôde a vo vode, ktoré ako oportúnne patogény môžu byť pôvodcami ochorenia - nokardióza. Ide o závažnú exogénnu infekciu, ktorej priebeh a prognóza sú odlišné v závislosti od formy ochorenia a celkového stavu jedinca. Rizikovými sú predovšetkým imunokompromitovaní jedinci. Liečba je tiež zložitá a ochorenie aj napriek liečbe môže byť pre pacienta fatálne. Zdrojom infekcie sú nokardie z pôdy alebo vody, ktoré sa inhaláciou alebo inokuláciou cez otvorenú ranu zanesú do organizmu. Podľa miesta vstupu infekcie do organizmu rozlišujeme rôzne formy nokardiózy, a to pľúcnu, kožnú a hematogénnu. Pri hematogénnej forme, ktorej priebeh je veľmi závažný sa nokardie môžu dostať až do mozgu, kde sú príčinou solitárnych abscesov.

Nokardie sú svojimi vlastnosťami podobné baktériám iných rodov ako sú mykobaktérie, korynebaktérie a aktinomycéty. V bunkovej stene obsahujú mykolové kyseliny a morfológicky sú podobné aktinomycétam. V rámci mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky postihnutia CNS sa ako vzorka použije krv na hemokultúru a ak je možné aj obsah abscesu (hnis, aspirát). Mikrobiologická diagnostika je založená na priamom dôkaze s použitím mikroskopie a kultivácie. V mikroskopickom preparáte farbenom podľa Grama vidíme grampozitívne vetviace sa vlákna. Pri farbení podľa Ziehl-Neelsena vidíme slabo acidorezistentne sa farbiace paličky. Kultivácia je predĺžená 3 – 7 dní na krvnom agare, kde vidíme biele, suché kolónie nepravidelnej veľkosti. Na identifikáciu jednotlivých druhov sa používajú biochemické testy a MALDI-TOF MS alebo aj molekulárno-diagnostické metódy (PCR).

ATB liečba je kombinovaná (kotrimoxazol s imipenémom alebo amikacínom) a závisí od výsledku citlivosti na ATB. CNS abscesy si vyžadujú aj chirurgickú liečbu.

2.2.1.7 Grampozitívne nesporelujúce mikroaerofilné až anaeróbne paličky

Actinomyces spp.

Aktinomycéty sú grampozitívne mikroaerofilné až striktne anaeróbne nesporelujúce paličky schopné tvoriť silne imunogénne puzdro. Ide o bežné komenzály ústnej dutiny, hrubého čreva a ženského genitálu. Ako oportúnne patogény môžu za určitých podmienok ako napr. pri porušení slizničných bariér - poranení, chirurgickým zákrokom alebo infekciou spôsobiť pomaly sa rozvíjajúce chronické ochorenie aktinomykózu. Aktinomykóza je charakterizovaná tvorbou granulomatózných lézií s tvorbou hnisu a abscesov. Vyskytuje sa v rôznych klinických formách podľa lokalizácie ako napr. cervikofaciálna, intratorakálna, abdominálna, gynekologická, vzácna kožná forma alebo aktinomykóza CNS. Pri generalizovaných vzácných formách môže dôjsť k rozšíreniu hematogénnou cestou do CNS, kde najčastejším prejavom postihnutia je mozgový absces, môže to byť však aj meningitída, subdurálny empyém alebo epidurálny absces.

Aktinomycéty sa svojimi vlastnosťami podobajú baktériám iných rodov. Klinickým materiálom pri postihnutí CNS môže byť likvor, hnis a krv na hemokultúru. Odber a transport materiálu musí byť realizovaný za dodržania anaeróbných podmienok (anaeróbny systém, transportná pôda pre anaeróby). V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike možno mikroskopicky potvrdiť aktinomycéty ako grampozitívne vetviace sa paličky, eventuálne vlákna tzv. pseudomycélia, čím sa podobajú hubovitým organizmom. Ich bunková stena obsahuje mykolové kyseliny, čím sa podobajú mykobaktériám, nie sú však acidorezistentné. Kultivácia je náročná a dlhá za anaeróbných podmienok. Rastú pomaly, kolónie sú viditeľné za 5, 10, 14 aj viac dní. Väčšina kmeňov je kataláza negatívna. Biochemické testy a MALDI-TOF MS sa používajú na identifikáciu jednotlivých druhov aktinomycét.

Liekom voľby je PNC G, ktorý sa aplikuje vo vysokých dávkach parenterálne. Liečba je dlhodobá, aj niekoľko mesiacov. Alternatívou v liečbe môžu byť aj makrolidy, linkosamidy – klindamycín alebo tetracyklíny. Chirurgicky je potrebná drenáž a odstránenie abscesu.

2.2.2 Gramnegatívne baktérie

2.2.2.1 Gramnegatívne aeróbne koky

Neisseria meningitidis

N. meningitidis (meningokok) je opúzdrená, gramnegatívna, aeróbna, nepohyblivá baktéria s charakteristickým usporiadaním do dvojíc označovaná ako diplokok, často uložená intracelulárne. *N. meningitidis* na jednej strane môže byť aj bežnou súčasťou slizničnej mikróflóry faryngu, no na druhej strane je považovaná za jednu z najvirulentnejších a najrýchlejšie zabíjajúcich baktérií vôbec. Asi 10 % ľudskej populácie sú asymptomatickí nosiči, ide o nazo- a orofaryngeálne nosičstvo. *N. meningitidis* môže vyvolávať nekomplikované infekcie ako je faryngitída, vzácnejšie môže spôsobiť pneumóniu. Najzávažnejším ochorením, ktorej je pôvodcom, je hnisavá meningokoková meningitída a/alebo meningokoková sepsa (meningokokcémia) s rýchlym progredujúcim priebehom s krvácaním do kože a vnútorných orgánov (krvácanie do nadobličiek tzv. Waterhouse-Friderichsenov syndróm). Infekcia sa prenáša kvapôčkami alebo priamym kontaktom. Zvlášť vnímavou vekovou skupinou sú kojenci a batolátá, mladiství a mladí dospelí do cca 24 rokov.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika využíva metódy priameho dôkazu ako sú mikroskopia, kultivácia a PCR za použitia likvoru a krvi (eventuálne aj krv z petéchie). Pacientovi sa odoberá aj krv na hemokultiváciu. *N. meningitidis* je veľmi citlivá na vyschnutie a chlad, preto sa odobratý klinický materiál nesmie skladovať v chladničke. V rámci rýchlej diagnózy sa používa latexová aglutinácia mozgovomiešneho moku (bedside metóda) na identifikáciu antigénov *N. meningitidis* v likvore, má však nízku senzitivitu. V prípade pozitívneho nálezu je viditeľná aglutinácia. Ďalšou rýchlou a veľmi spoľahlivou metódou je PCR. V mikroskopickom preparáte likvoru zafarbenom podľa Grama sú gramnegatívne diplokoky pripomínajúce kávové zrná a polymorfonukleárne leukocyty. Baktéria je kultivačne náročná, preto na kultiváciu sa používa krvný agar s rastovými faktormi v kapnofilnom prostredí alebo čokoládový agar, kde vytvára kolónie pripomínajúce kvapky rosy. Dôležité je stanovenie citlivosti na ATB a určenie séroskupiny pomocou LA s antisérmi. Najvýznamnejšie sú séroskupiny A, B, C, W a Y. U nás sa vyskytujú najčastejšie séroskupiny B a C. Cytochrómoxidázový (oxidázový)

test je pozitívny (produkuje enzým cytochrómoxidázu), čo sa prejaví buď sčernaním kolónií po aplikácii Kovacsovho činidla na kolónie baktérií alebo tmavofialovým zafarbením filtračného papiera impregnovaného činidlom v mieste nánosu baktérií. Pri stanovení biochemických vlastností, *N. meningitidis* fermentuje maltózu a glukózu a nefermentuje laktózu a sacharózu, čo sa využíva pri druhovej identifikácii neisérií. Neoddeliteľnou súčasťou mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky baktérií je aj stanovenie citlivosti *N. meningitidis* na ATB.

Liečbu treba nasadiť čo najskôr. Ako lieky prvej voľby sa podávajú cefalosporíny III. generácie, terapia sa upravuje podľa citlivosti. V rámci krátkodobej chemoprofylaxie sa podáva rifampicín, azitromycín alebo amoxicilín. Očkovanie je k dispozícii konjugovanou vakcínou proti antigénom polysacharidového puzdra rôznych séroskupín, avšak nie je súčasťou povinného očkovania.

2.2.2.2 Gramnegatívne fakultatívne anaeróbne paličky

Haemophilus influenzae

H. influenzae je gramnegatívna fakultatívne anaeróbna palička, nesporulujúca, nepohyblivá, pomerne malá, ktorá môže mať aj tvar kokobacila a môže mať aj schopnosť tvorby púzdra. Väčšinou neopúzdrené kmene sú normálnou súčasťou mikrobióty slizníc respiračného traktu, ktoré môžu byť príčinou neinvazívnych lokalizovaných infekcií ako sínusitída, otitída alebo pneumónia. Opúzdrené kmene predovšetkým *H. influenzae* typu b (Hib) môžu byť príčinou životohrozujúcich infekcií ako hnisavá meningitída a epiglotitída. Opúzdrený *H. influenzae* sa môže šíriť hematogénne z nazofaryngu do CNS alebo na podklade bakteriémie s následnou disemináciou do CNS a spôsobiť meningitídu. Vďaka zavedeniu povinného očkovania detí konjugovanou vakcínou proti Hib vo vyspelých krajinách sa meningitída spôsobená týmto pôvodcom v detstve objavuje len v ojedinelých prípadoch. Infekcia sa prenáša kvapôčkami alebo priamym kontaktom s chorým, predispozičným faktorom vzniku infekcie je porušený slizničný epitel. Hib bol pred zavedením povinného očkovania najčastejším pôvodcom hnisavej meningitídy u detí. U dospelých môžu aj neopúzdrené kmene vyvolať meningitídu. Najčastejšie však ide o sekundárne šírenie infekcie na

podklade otitídy zo stredoušnej dutiny alebo sínusitídy z vedľajších nosových dutín.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na priamom dôkaze – kultivácii, LA z likvoru prípadne PCR. Pri CNS infekcii sa odoberá likvor a hemokultúra. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama sú prítomné gramnegatívne pleiomorfne paličky. Pri farbení preparátu Burriho tušovou metódou je možné dokázať prítomnosť polysacharidového púzdra (bezfarebné púzdro obklopujúce telo baktérie). Je kultivačne náročná baktéria, ktorá rastie v malých priehľadných kolóniách. Na kultiváciu sa používa čokoládový agar (prítomnosť rastových faktorov X a V). Na krvnom agare dokáže rásť len v prítomnosti *S. aureus* (krvný agar so stafylokokovou čiarou) v okolí jeho kolónií – satelitový fenomén. *H. influenzae* vyžaduje pre svoj rast prítomnosť oboch rastových faktorov (X a V). Na druhovú identifikáciu hemofilov sa používa diskový difúzny test pre rastové faktory X a V alebo hmotnostná spektrometria. Typ púzdra sa určuje pomocou latexovej aglutinácie. LA má svoje nezastupiteľné miesto v rýchlej diagnostike hnisavej meningitídy, avšak s možným rizikom nízkej senzitivity, preto rýchlu diagnostiku s vysokou citlivosťou dnes významne dopĺňa PCR. Neoddeliteľnou súčasťou mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky baktérií je aj stanovenie citlivosti *H. influenzae* na ATB.

Liekom voľby hnisavej meningitídy sú cefalosporíny III. generácie (spolu s kortikosteroidmi).

Enterobacteriaceae

Gramnegatívne fakultatívne anaeróbne fermentujúce paličky z čeľade *Enterobacteriaceae* (enterobaktérie alebo črevné baktérie) predstavujú rozsiahlu a rôznorodú skupinu baktérií. Väčšina je súčasťou fyziologickej mikroflóry hrubého čreva, avšak ako podmienené patogény sa môžu za určitých podmienok uplatniť v patogenéze extraintestinálnych komunitných aj nozokomiálnych infekcií. Niektoré sú obligátne patogény, ktoré sa fyziologicky v GIT trakte nenachádzajú. Sú pôvodcovia infekčných hnačiek ako aj ťažkých život ohrozujúcich systémových ochorení. Enterobaktérie môžu byť pôvodcami aj infekcií CNS. Meningitídy spôsobené enterobaktériami ako sú *E. coli*, *K. pneumoniae* a *Proteus spp.* sa

vyskytujú hlavne u novorodencov. Môžu sa vyskytnúť ale aj u starších ľudí, pacientov s imunosupresiou alebo s chronickým renálnym zlyhaním.

Jednotlivé rody enterobaktérií sa od seba z hľadiska morfológie veľmi nelíšia. Väčšina enterobaktérií je pohyblivá, na povrchu majú fimbrie a niektoré majú schopnosť tvoriť puzdro. V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike enterobaktérií sa používa mikroskopické vyšetrenie (farbenie podľa Grama na dôkaz gramnegatívnych paličiek, farbenie podľa Burriho na dôkaz bakteriálneho puzdra, natívny preparát na dôkaz aktívneho pohybu pomocou bičíkov). Enterobaktérie nie sú kultivačne náročné, kultivujú sa na krvnom agare, kde rastú v charakteristických kolóniách s typickým fekálnym zápachom. Enterobaktérie sú biochemicky aktívne, fermentujú sacharidy, využívajú organické kyseliny, štiepia aminokyseliny, môžu produkovať H_2S alebo ureázu. Sú kataláza pozitívne, oxidáza negatívne, čo sa využíva na ich odlíšenie od vibrií a pseudomonád. Patogénne formy bývajú menej aktívne. Na dôkaz ich biochemických vlastností sa používajú selektívno-diagnostické pôdy napr. Endova pôda/agar (EA), deoxycholát citrátový agar (DCA), MacConkey agar, Hajnova pôda/Triple sugar iron (TSI) agar. K dispozícii sú aj štandardné komerčné biochemické testy (ENTEROTESTY) na identifikáciu baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*. Na identifikáciu (okrem *E. coli* a šigel) možno použiť aj MALDI-TOF MS. V indikovaných prípadoch na rýchlu identifikáciu možno použiť aj PCR metódu. K identifikácii konkrétneho sérotypu sa používa spätná sklíčková aglutinácia.

Escherichia coli

E. coli je gramnegatívna, fakultatívne anaeróbna, pohyblivá palička, ktorá je bežnou súčasťou črevnej mikroflóry ako komenzál, saprofyt aj symbiont. V rámci druhu sú popísané aj kmene s patogénnym pôsobením, ktoré spôsobujú rôzne ochorenia. Môžu spôsobiť aj potencionálne fatálnu novorodeneckú meningitídu. Opuzdrené kmene s kapsulárnym antigénom typu K1 predisponujú ku novorodeneckým meningitídám. *E. coli* patrí k najčastejším patogénom meningitíd u detí počas prvých týždňoch života.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na priamom dôkaze vyšetrením likvoru – mikroskopia, kultivácia, sérotypizácia kmeňov pomocou spätnej aglutinácie, PCR metóda. Rastie na bežných kultivačných pôdach, na EA

tvorí tmavo-červené kolónie (cviklovej farby) s typickým kovovým leskom a skvasuje laktózu. Je biochemicky veľmi aktívna na TSI agare, fermentuje sacharidy (laktózu, glukózu a sacharózu) s produkciou plynu.

E. coli je citlivá na väčšinu ATB. Pri vážnych infekciách ako sú aj infekcie CNS sa liečba riadi antibiogramom, liekmi voľby sú potencovaný PNC – aminopenicilín alebo cefalosporíny II. - cefuroxim až III. generácie.

Salmonella spp.

Salmonella spp. je gramnegatívna fakultatívne anaeróbna, pohyblivá, primárne patogénna baktéria – palička. Zdrojom infekcie je výlučne človek, chorý alebo bacilonosič. Prenos je fekálno-orálnou cestou, kontaminovanou vodou a potravou. *Salmonella enterica* supsp. *enterica* sérovar *Typhi*, zjednodušene *Salmonella typhi* (*S. typhi*) ako pôvodca brušného týfusu môže v dôsledku bakteriémie a následného uvoľnenia endotoxínu z rozpadnutých buniek postihnúť aj mozog (najmä frontálny lalok a mozoček) v podobe vaskulitídy, priameho toxického poškodenia neurónov, glie, ischemických nekróz alebo hemorágií. *Salmonella enterica* supsp. *enterica* sérovar *Paratyphi* zjednodušene *Salmonella paratyphi* (*S. paratyphi*) ako pôvodca paratýfusu môže v dôsledku bakteriémie, septikémie a účinku toxínu spôsobiť poškodenie CNS s obrazom purulentnej meningitídy. Komplikáciou salmonelózy môže byť meningitída, ako aj tvorba mikroabscesov s ložiskovým alebo difúznym postihnutím CNS.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika využíva priamy aj nepriamy dôkaz. V mikroskopickom preparáte sú prítomné gramnegatívne paličky. Kultivuje sa na EA alebo DCA alebo TSI agare. Sú neschopné fermentovať laktózu, schopné produkovať sírovodík, malé množstvo plynu, toxín a sú schopné expresie mnohých antigénnych typov. Konečná serotypizácia sa robí použitím špecifických komerčných antisér sklíčkovou aglutináciou. Nepriamy dôkaz – Widalova reakcia je založená na priamej aglutinácii pre dôkaz špecifických protilátok v sére.

Salmonely sú dobre citlivé na cefalosporíny, aminopenicilíny, fluorochinolóny, kotrimoxazol. Možno podať aj chloramfenikol.

Shigella spp.

Shigella spp. sú gramnegatívne, fakultatívne anaeróbne, nepohyblivé, primárne patogénne baktérie - paličky. Jednotlivé druhy sa líšia antigénnou štruktúrou. Vo všeobecnosti sú málo biochemicky aktívne s neschopnosťou fermentovať laktózu, ako aj s neschopnosťou produkovať sírovodík a plyn. Zdrojom infekcie je človek, prenos infekcie je alimentárnou cestou. Zo šigel najväčšiu afinitu k CNS má *Shigella dysenteriae*. Ako pôvodca dyzentérie (šigelózy, bacilárnej úplavice) môže účinkom toxínu – shiga toxínu, ktorý je entero-, neuro- a cytotoxický spôsobiť ischemické nekrózy alebo drobné hemorágie ako dôsledok toxickej encefalopatie.

V rámci mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky sa používa priamy dôkaz (výter z rekta, stolica) – mikroskopia, kultivácia, prípadne PCR. Baktérie sa kultivujú na selektívno-diagnostických pôdach a identifikujú sa na základe biochemických vlastností a spätnej sklíčkovej aglutinácie.

Liečba v závažných prípadoch je ATB, podávajú sa makrolidy – azitromycín, fluorochinolóny – ciprofloxacín alebo kombinovaný sulfonamid – kotrimoxazol.

Ostatné *Enterobaktérie*

Enterobaktérie ako *Enterobacter spp.*, *K. pneumoniae*, *Proteus spp.* môžu byť pôvodcami meningitíd hlavne u novorodencov. Sú gramnegatívne obyčajne pohyblivé, kultivačne nenáročné, kataláza pozitívne a oxidáza negatívne. Fermentujú laktózu (okrem *Proteus spp.*), čo sa využíva na ich odlíšenie od obligátne patogénnych salmonel a šigel. Pre *Proteus spp.* je typický Raussov fenomén (plazivý rast). Citlivé sú na cefalosporíny, ktoré sú aj liekom voľby.

2.2.2.3 Gramnegatívne nefermentujúce aeróbne paličky

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) je gramnegatívna, striktna aeróbna, nefermentujúca pohyblivá palička, niekedy so schopnosťou tvorby slizovej vrstvy. Ako saprofyt je prítomná vo vonkajšom prostredí. Prirodzenými rezervoármi sú pôda, voda, bežná je kolonizácia rastlín, slizníc zvierat aj ľudí. Vyznačuje sa

výraznou rezistenciou aj voči mnohým antibiotikám a antiseptikám. Je významným oportúnnym patogénom, ktorý ale môže spôsobiť závažné infekcie u imunosupresívnych pacientov a hospitalizovaných pacientov ako pôvodca nozokomiálnych infekcií. Rozvoju infekcie obyčajne predchádza kolonizácia slizníc pacientov v nemocničnom prostredí a poškodenie obranných mechanizmov napr. pri traume, invazívnych diagnostických a terapeutických výkonoch alebo ťažké základné ochorenie s alteráciou imunity. Z hľadiska postihnutia CNS môže byť pôvodcom aj mozgových abscesov.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa zakladá na vyšetrení klinického materiálu použitím mikroskopie a kultivácie. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama sú prítomné gramnegatívne paličky. Kultivácia je na krvnom agare, kde rastie s beta-hemolýzou, alebo na živnom agare a na selektívnych diagnostických pôdach pre gramnegatívne paličky. Rastie v charakteristických pigmentovaných kolóniách. Najčastejší pigment je pyocyanín alebo iný ako pyoverdín, pyorubín a pyomelanín. Kolónie majú typický zápach, mladé kolónie sa vyznačujú ovocno-kvetinovou vôňou po fialkách, jasmíne alebo jahodách, staré kolónie majú amoniakálny zápach. Biochemicky je málo aktívna, preto sa označuje termínom nefermentujúca palička (nefermentuje glukózu). Je oxidáza pozitívna, čo slúži na jej odlíšenie od črevných gramnegatívnych paličiek z čeľade *Enterobacteriaceae*. Je tiež kataláza pozitívna a ureáza pozitívna. Na identifikáciu slúži MALDI-TOF MS. Veľmi dôležitým krokom je stanovenie citlivosti *P. aeruginosa* na ATB.

Liekom voľby sú potencovaný ureidopenicilín - piperacilín/tazobaktam, cefalosporín III. generácie – ceftazidím, cefalosporín IV. generácie – cefepím a karbapenémy – meropeném alebo imipeném. Závažné pseudomonádové infekcie vyžadujú kombinovanú liečbu uvedenými preparátmi s aminoglykozidmi.

Acinetobacter baumannii

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*) je gramnegatívna, striktne aeróbna baktéria, nefermentujúca, nepohyblivá palička s typickou morfológiou krátkych paličiek alebo kokov vo dvojiciach, bežne rozšírená v prírode, vyznačujúca sa nízkou patogenitou a schopnosťou prežívať v suchom prostredí. Ako pôvodca nozokomiálnych infekcií komplikovaných septikémiou predovšetkým na JIS môže

postihnúť aj CNS (kolonizácia CNS shuntov). Nozokomiálne kmene sa vyznačujú dlhodobým prežívaním, epidemickým šírením a rezistenciou k ATB.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na priamej diagnostike. Pri postihnutí CNS sa vyšetruje väčšinou odobratý shunt a hemokultúra. Na detekciu sa používa kultivácia a na identifikáciu biochemické testy, PCR alebo MALDI-TOF MS. Veľmi dôležitým krokom je stanovenie citlivosti *A. baumannii* na ATB.

Liečba závisí od výsledkov ATB citlivosti, ktoré môžu byť variabilné.

2.2.2.4 Gramnegatívne kultivačne náročné aeróbne paličky

Brucella spp.

Brucely sú gramnegatívne, aeróbne, intracelulárne kokobacily, nepohyblivé, neopúzdrené, kultivačne náročné, pomaly rastúce, metabolicky málo aktívne. Ako intracelulárne patogény, ktoré napádajú predovšetkým bunky monocyto-makrofágového systému sú zaradené medzi bioteroristické agensy tzv. BSL-3. Sú pôvodcami antropozoonózy - brucelózy, infekcie prenosnej zo zvierat na človeka cez kožné poranenia inhaláciou alebo alimentárnou cestou (požitím kontaminovanej potravy ako nepasterizovaného mlieka alebo surového mäsa). Infekcia je vďaka veterinárnym opatreniam u nás eradikovaná. Podľa druhu a kmeňa brucely sa brucelóza vyskytuje v rôznych formách. Brucelóza je charakterizovaná tvorbou granulómov v postihnutých miestach a ich deštrukciou, doprevádzaná febríliami, potením, únavou, anémiou, splenomegáliou, lymfadenopatiou, artralgiami, myalgiami a pri septikémii môže postihnúť aj CNS vo forme meningitídy, encefalitídy alebo myelitídy.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa opiera o priamy aj nepriamy dôkaz infekcie. Pri podozrení na postihnutie CNS sa odoberá likvor a hemokultúry. Priamy dôkaz zahŕňa mikroskopiu (gramnegatívne paličky), kultiváciu (vlhké, lesklé a fluoreskujúce kolónie) a PCR. PCR metodika je najcitlivejšia. Kultivácia má nižšiu výpovednú diagnostickú hodnotu, pretože je predĺžená, niekedy aj viac ako 1 týždeň, za striktno aeróbných podmienok na špeciálnej obohatenej pôde, naviac hrozí riziko nákazy aerosólom. Význam má hemokultivácia. Nepriama

diagnostika predstavuje sérologický dôkaz pomocou aglutinácie s dôkazom prítomnosti špecifických protilátok, čo sa používa k potvrdeniu diagnózy.

V liečbe sa doporučuje kombinácia tetracyklínu – doxycyklínu s rifampicínom. Alternatívnou liečbou je kotrimoxazol s rifampicínom. Alternatívou rifampicínu môže byť aminoglykozid – gentamicín.

Francisella tularensis

F. tularensis je gramnegatívna, striktno aeróbna, intracelulárna, nepohyblivá, kultivačne náročná, malá palička – kokobacil. Ako intracelulárny patogén napáda bunky monocyto-makrofágového systému, zaradená je medzi bioteroristické agensy BSL-3. Je pôvodcom antropozoonózy – tularémie „zajačej choroby“. Ide o vzácnu, ale vysoko nákazlivú infekciu, ktorej zdrojom sú zvieratá - hlodavce (hlavne zajace a králiky). Rezervoárom sú domáce zvieratá, voľne žijúce vtáky, ryby, komáre alebo kliešte, ktoré sú aj vektormi prenosu. Rizikovou skupinou sú najmä poľovníci. Infekcia sa vyskytuje v rôznych formách v závislosti od miesta vstupu infekcie do organizmu (koža, inhalácia, kontaminovaná voda a potrava, kliešť, komár), a to ako ulceroglandulárna, okuloglandulárna, glandulárna, pľúcna, orofaryngeálna a gastrointestinálna (tyfoidná) forma s rôznou klinickou symptomatológiou. Pri bakteriémii môže dôjsť k postihnutiu CNS v podobe purulentnej meningitídy alebo meningoencefalitídy.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa zakladá na priamom dôkaze (odber likvoru a krvi na hemokultúru) - mikroskopickom, kultivačnom a PCR. Možný je aj nepriamy sérologický dôkaz protilátok pomocou aglutinácie. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama sú gramnegatívne kokobacily. Možný je aj mikroskopický dôkaz pomocou fluorescenčného mikroskopu použitím fluorescenčne značených protilátok. Kultivácia je náročná, predĺžená, za striktno aeróbnych podmienok na špeciálnej pôde s cysteínom a glukózou; kolónie sú drobné a priehľadné. Hrozí riziko nákazy aerosólom, prípadene cez kožu alebo sliznice. Vyššiu senzitivitu má PCR.

Liekom voľby sú aminoglykozidy – streptomycín, gentamicín alebo tetracyklín – doxycyklín.

Legionella pneumophila

Legionella pneumophila je aeróbna, pohyblivá, gramnegatívna pleomorfná palička až vlákno. Tento vodný saprofyt a intracelulárny ľudský patogén spôsobuje dve formy ochorenia (legionelózy) – pontiacku horúčku a legionársku chorobu. Ako pôvodca legionárskej choroby vedie k ťažkej pneumónii s tvorbou mikroabscesov a multiorgánovým postihnutím vrátane CNS. Infekcia sa prenáša inhalačne cez aerosol napr. z klimatizácie, víriviek, fontán, ktoré sú kontaminované týmto patogénom. Môže byť pôvodcom aj nozokomiálnych nákaz v prípade kontaminácie rozvodov vody alebo klimatizácie v nemocničnom zariadení. Ochorenie nie je prenosné z človeka na človeka.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na priamom dôkaze. V mikroskopickom preparáte zafarbenom podľa Grama sú gramnegatívne slabo sa farbiace pleomorfné paličky. V natívnom preparáte možno dokázať pohyb. Kultivácia je veľmi náročná a predĺžená. Rastie na špeciálnych kultivačných médiách; kolónie narastú do 5 dní. PCR dokáže detegovať bakteriálnu DNA v biologickom materiáli. V laboratórnej diagnostike sa využíva rýchly test - dôkaz antigénu v biologickom materiáli pomocou imunochromatografie. V nepriamej diagnostike na dôkaz špecifických protilátok možno použiť ELISA metódu alebo KFR, nejedná sa však o rutinné vyšetrenie.

Liečba legionárskej choroby je antibiotická, používajú sa makrolidy – erytromycín alebo azitromycín, alternatívou sú fluórochinolóny – levofloxacín.

Bordetella pertussis

B. pertussis je gramnegatívna, striktne aeróbna, nepohyblivá, opúzdrená, malá palička – kokobacil. Ako obligátny patogén je pôvodca čierneho kašľa (pertussis), čo je vysoko nákazlivé ochorenie s vysokou úmrtnosťou. Očkovanie proti pertussis je súčasťou povinného očkovania. Nemá žiadny prírodný rezervoár, prenáša sa z človeka na človeka kvapôčkami. Ochorenie má 3 klinické štádiá – katarálne, paroxysmálne a rekonvalescentné. V rekonvalescentnom štádiu sa môžu objaviť sekundárne komplikácie, ku ktorým patria aj komplikácie neurologické (kŕče, encefalopatia). Pri bakteriémii pôsobí priamo toxicky na nervové bunky a cievy. Pri infekcii CNS môže dôjsť k extravazácii do

perivaskulárnych priestorov so vznikom ischemických nekróz alebo hemorágií vrátane subarachnoideálneho krvácania, krvácania do chorioidálnych plexov a subdurálneho krvácania. Môže dôjsť až degeneratívnym zmenám nervových buniek.

Kedže bordetely sú veľmi citlivé na vysušenie a mastné kyseliny v bavlné odberových materiálov sú pre ne toxické, je z hľadiska správnej mikrobiologickej laboratórnej diagnostiky veľmi dôležitý správny odber biologického materiálu, ako aj jeho včasný transport do laboratória. Odber vzorky sa uskutočňuje zo zadnej steny nazofaryngu, pričom navlhčený odberový drôtik sa zasúva pozdĺž nosovej prepážky po spodnej stene nosovej dutiny. Alternatívou odberu môže byť aj aspirát alebo tzv. kašľacie platne. Na transport sa používajú špeciálne transportné médiá. Je kultivačne náročná, nerastie na bežných pôdach, preto na kultiváciu sa používajú špeciálne kultivačné médiá ako je napr. Bordette-Gengouova pôda. Kultivácia je vo vlhkej komôrke, predĺžená, trvá aj niekoľko dní. PCR metóda na detekciu DNA je veľmi citlivá a umožňuje včasnú diagnostiku ochorenia. Sérologicky možno dokázať špecifické protilátky v sére pacienta pomocou ELISA metódy.

Liekom voľby sú makrolidy – erytromycín, azitromycín alebo klaritromycín, alternatívou je kotrimoxazol.

2.2.2.5 Gramnegatívne anaeróbne paličky

Bacteroides fragilis

Bacteroides fragilis je gramnegatívna, anaeróbna, nesporulujúca pleomorfná baktéria – palička, ktorá môže byť aj kokovitého tvaru, prípadne ojedinele aj tvaru vlákna. Môže byť súčasťou slizničnej mikroflóry. Ako oportúnny patogén môže spôsobiť tkanivové poškodenie v rôznych lokalizáciách najčastejšie v orofaciálnej, abdominálnej alebo panvovej oblasti. V CNS môže byť príčinou mozgového abscesu obyčajne polymikrobiálnej etiológie. Vznik mozgového abscesu je podmienený chronickými infekciami paranazálnych dutín a ucha. V patogenéze ochorenia sa podieľa puzdro, pri invázii a tkanivovom poškodení zohráva dôležitú úlohu produkcia exoenzýmov, imunosupresia, poškodenie tkaniva a podobne.

Keďže ide o anaeróbnú baktériu, odber, transport a mikrobiologická laboratórna diagnostika musia byť realizované za dodržania anaeróbných podmienok. V mikroskopickom preparáte farbenom podľa Grama sú prítomné nesporelujúce gramnegatívne paličky alebo kokobacily. Pri farbení podľa Burriho možno dokázať puzdro. Kultivácia je za anaeróbných podmienok na Veillonov (VL) agar. Biochemická identifikácia pomocou ANAEROTESTOV je dôležitá pre stanovenie diagnózy.

Liekom voľby je nitroimidazol – metronidazol.

Prevotella melaninogenica

Prevotella melaninogenica je veľmi malá gramnegatívna, anaeróbná, nesporelujúca oportúnna palička, ktorá sa môže podieľať na vzniku abscesov v rôznych lokalizáciách vrátane CNS, kde je príčinou mozgového abscesu polymikrobiálnej etiológie na podklade šírenia infekcie z okolia najčastejšie sínusitídy.

Keďže ide o anaeróbnú baktériu, odber, transport a laboratórna diagnostika musia byť realizované za dodržania anaeróbných podmienok. Mikroskopicky pri farbení podľa Grama sú prítomné gramnegatívne paličky. Kultivácia je za anaeróbných podmienok na VL agare. Na identifikáciu sa používajú ANAEROTESTY.

Liekom voľby je nitroimidazol – metronidazol.

2.2.3 Iné ako grampozitívne a gramnegatívne baktérie

Mycobacterium

Mykobaktérie sú acidorezistentné, nepohyblivé, aeróbne paličky, ktoré sa líšia od ostatných baktérií neobvyklými morfológicko-kultivačnými vlastnosťami, ako je odlišná stavba ich bunkovej steny (prítomnosť mykolových kyselín a s tým spojená nemožnosť farbenia podľa Grama) a dlhá doba kultivácie (niekoľko týždňov).

Mycobacterium tuberculosis

M. tuberculosis je obligátna aeróbna nepohyblivá baktéria, intracelulárny patogén buniek monocyto-makrofágového systému. Označuje sa termínom acidorezistentná palička, pretože na základe charakteristického zloženia bunkovej steny je rezistentná voči silným kyselinám resp. kyslému alkoholu. Je odolná aj voči vyschnutiu, detergentom, alkoholovým dezinfekčným prostriedkom, ako aj v praxi bežne používaným ATB. Ako primárny ľudský patogén je pôvodcom tuberkulózy. Zdrojom infekcie je chorý s aktívnou tuberkulózou, ktorý vylučuje mykobaktérie do prostredia pri pľúcnej forme vykašľávaním spúta, pri urogenitálnej forme močom a pri črevnej forme stolicou. Zvýšené riziko infekcie je u imunosuprimovaných jedincov. Závažnou formou extrapulmonálnej tuberkulózy je postihnutie CNS. Postihnutie CNS charakterizuje tuberkulózný exudatívny, serózne-fibrinózný zápal s postihnutím aj ciev s obrazom perivaskulárnej infiltrácie a arteritídy. Klinický obraz postihnutia CNS môže byť rôznorodý, a to ako obraz tuberkulóznej seróznej meningitídy, miliárnych tuberkulózných uzlov – tuberkulómov a tuberkulózných abscesov.

Pri manipulácii s infekčným materiálom je nutné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia – BSL-3. Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa opiera o priamy dôkaz, ktorý zahŕňa mikroskopiu a kultiváciu. Mikroskopia využíva fluorescenčné farbenia eventuálne aj farbenie podľa Ziehl-Neelsena s dôkazom acidorezistentných paličiek. Pred kultiváciou je potrebná dekontaminácia vzorky pridaním NaOH a potom HCl na elimináciu ostatných mikroorganizmov. Klasická kultivácia sa realizuje na špeciálnych selektívnych vaječných pôdach (napr. Lowenstein-Jensenova pôda) pre mykobaktérie, kde rastie v charakteristických karfiolovitých kolóniách nažltlej farby. Kultivácia je predĺžená, trvá 6 - 9 týždňov. Používajú sa aj urýchlené kultivačné postupy, ktoré využívajú moderné poloautomatické systémy (*Mycobacteria growth indicator tube* - MGIT), umožňujúce odčítanie vzorky za 10 - 14 dní. Ide o tekuté pôdy so senzormi, ktoré snímajú množstvo vyprodukovaného CO₂ alebo naopak spotrebu O₂. Molekulárno-biologické metódy ako napr. PCR sa používajú na priamy dôkaz nukleovej kyseliny zo vzorky, s rýchlym výsledkom v priebehu niekoľkých hodín.

K identifikácii *M. tuberculosis* t.j. odlíšeníu od ostatných druhov mykobaktérií sa okrem charakteristického rastu, používajú biochemické testy, PCR ako aj MALDI-TOF MS. V rámci diagnostiky tuberkulózy aktívnej, ale hlavne latentnej formy sa používajú aj skriningové testy ako tuberkulínový kožný test a Interferon-Gamma Release Assays (IGRA) testy. IGRA testy (QuantiFERON® TB Goldtest alebo T-SPOT® TB test) sú špecifické kvantitatívne testy založené na stanovení uvoľňovaného množstva interferónu gamma (IFN- γ) vo vzorke krvi s výsledkom behom 24 hodín bez falošnej pozitivity u *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) očkovaných jedincov. Nález v likvore môže byť rôznorodý. Likvor je väčšinou zakalený, ale môže byť aj číry, často xantochrómny až hemoragický. Najprv sú prítomné zvýšené polymorfonukleáry, neskôr lymfocyty a monocyty.

V liečbe sa používajú antituberkulotiká. Liečba tuberkulózy je dlhodobá, kombinovaná a neprerušovaná. Prevenciou je vakcinácia živou atenuovanou vakcínou BCG.

Mycoplasma

Mycoplasma pneumoniae

M. pneumoniae je fakultatívne anaeróbna baktéria bez bunkovej steny, ktorá ako primárny ľudský patogén spôsobuje mykoplazmové respiračné infekcie - zápal horných dýchacích ciest, tracheobronchitídu, prípadne aj infekciu ucha a mykoplazmovú (atypickú) pneumóniu, ktorá je najzávažnejšia s možnými komplikáciami aj zo strany CNS s obrazom aseptické meningitídy s lymfocytárnou pleocytózou v likvore. Závažný priebeh môže mať infekcia u imunokompromitovaných jedincov, u ktorých môže byť až fatálna. Infekcia sa prenáša z nakazeného človeka na človeka kvapôčkovou infekciou z dýchacích ciest.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na priamom dôkaze pomocou PCR a nepriamom dôkaze – sérológie pomocou KFR alebo ELISA. Ako pozitívny výsledok sa berie štvornásobne zvýšený titer špecifických protilátok IgA.

V liečbe sa používajú tetracyklíny – doxycyklín, makrolidy – azitromycín, klaritromycín alebo fluorochinolóny – ofloxacín, levofloxacín. Keďže ide o baktérie bez bunkovej steny, ATB inhibujúce syntézu bunkovej steny ako beta-laktámy, glykopeptidy sú v liečbe mykoplazmových infekcií neúčinné.

Chlamydia

Chlamydia psittaci

Chlamydia psittaci patrí medzi chlamýdie, malé baktérie špeciálnych vlastností, ktoré sú obligátne intracelulárne patogény. Je pôvodcom ochorenia – zoonózy označovanej ako psitakóza (ornitóza), ktorá je charakterizovaná infektom dolných dýchacích ciest. Ochorenie sa prejavuje chrípkovými príznakmi a komplikáciami zo strany respiračného traktu (atypická pneumónia). Môže dôjsť aj ku GIT postihnutiu (hepatosplenomegália), prípadne aj CNS s obrazom meningeálneho dráždenia. Zdrojom infekcie sú vtáci, prenos infekcie je buď priamym kontaktom, alebo pri kontakte s perím, trusom vdýchnutím elementárnych teliesok cez dýchacie cesty.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika využíva priamy dôkaz pomocou PCR, alebo dôkaz antigénu pomocou imunoanalýzy ELISA alebo imunofluorescencie. Nepriamy dôkaz – sérologická diagnostika je založená na dôkaze špecifických IgM protilátok, prípadne vzostupe titra IgG pomocou KFR.

V liečbe sa používajú makrolidy alebo tetracyklíny.

Spirochaeta

Spirochéty – *Treponema spp.*, *Leptospira spp.* a *Borrelia spp.* sú gramnegatívne špirálovité baktérie zodpovedné za infekcie u ľudí.

Treponema pallidum subsp. pallidum

T. pallidum je pôvodcom sexuálne prenosnej infekcie – syfilisu. Získaný syfilis má klinické štádiá a to primárne (ulcus durum), sekundárne (diseminácia krvnou

a lymfatickou cestou do celého tela) a terciárne (vážne poškodenie kardiovaskulárneho systému - KVS, CNS, kostí a kĺbov). V terciárnom štádiu, ktoré vzniká po niekoľkých rokoch od primárnej infekcie pri neliečenom alebo zle liečenom syfilise, dochádza k postihnutiu aj CNS v podobe neurosyfilisu. Ide o zápalové postihnutie meningov (luická meningitída), ciev, mozgových nervov, s úbytkom neurónov, proliferáciou glie s degeneratívnymi a demyelinizačnými zmenami hlavne pri spinálnom postihnutí, s prítomnosťou spirochét v CNS. V mozgu sa môžu tvoriť granulómy, zápalové uzlíky označované ako gumma cerebri (fokálny cerebrálny luický syndróm). Pri postihnutí parenchýmu miechy vzniká tabes dorsalis, pri postihnutí mozgu progresívna paralýza, niekedy kombinácia ako tabo-paralýza. Tabes dorsalis je spôsobený systémovou degeneráciou zadných povrazcov, zadných a postranných miechových rohov a zadných koreňov v dôsledku zápalu meningov a ciev, charakterizovaný typickými Argyll-Robertsonovými zrenicami, poruchami citlivosti, areflexiou, ataxiou, trofickými zmenami na koži, kĺboch, svaloch, poruchami vegetatívneho nervového systému, poruchami funkcie zvieracích, často aj psychickými poruchami. Progresívna paralýza je prejavom chronickej meningoencefalitídy, charakterizovaná psychickými poruchami až úplnou demenciou. Ochorenie napriek liečbe končí letálne. Vrodený syfilis vzniká transplacentárnym prenosom infekcie z matky na dieťa počas tehotenstva. Môže dôjsť k potratu alebo k narodeniu trvale poškodeného jedinca s postihnutím aj CNS s obrazom meningitídy alebo meningoencefalitídy s rozvojom taboparalýzy.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa používa sérologický dôkaz protilátok pomocou netreponémových a treponémových testov. Netreponémové testy (BWR – Bordet-Wassermannova reakcia, RRR – rýchla reagínová reakcia, VDRL – Venereal Disease Research Laboratory test) sú nešpecifické, skríningové, používané na sledovanie liečby, môžu byť falošne pozitívne. Treponémové testy (TPHA – Treponema pallidum hemagglutination, TPI test – Treponema pallidum immobilizing test, FTA-ABS – fluorescenčný-absorpčný test) sú špecifické, konfirmačné. Význam má aj vyšetrenie likvoru s lymfomonocytárnou pleocytózou, vzostupom proteinoráchie a IgG. Treponémy sú ťažko farbiteľné, možné je ich znázorniť pomocou mikroskopie v tmavom poli alebo impregnáciou striebrom vo svetelnom mikroskope alebo pomocou

imunofluorescencie. Kultivačne sú veľmi náročné, vyžadujú si špecifické podmienky a prostredie.

Liekom voľby je PNC (PNC G), v prípade alergie na penicilín je možná alternatívna liečba tetracyklínmi (doxycyklínom).

Leptospira spp.

Leptospiry (*Leptospira interrogans*, *Leptospira icterohaemorrhagica* a iné) sú pôvodcami leptospirózy, zoonózy, ktorá sa prenáša na človeka výlučkami domácich alebo divožijúcich zvierat cez porušenú kožu, sliznice alebo spojovky. Infekcia môže prebiehať asymptomaticky alebo symptomaticky ako chrípkové ochorenie s lymfadenopatiou a bakteriémiou, kedy môže dôjsť k invázii do rôznych orgánov vrátane CNS s obrazom meningeálneho dráždenia (aseptická meningitída), poruchou vedomia, letargiou, až kómou.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika potvrdí prítomnosť spirochét mikroskopiou v tmavom poli a pomocou imunofluorescencie. Kultivácia je náročná a dlhodobá, vyžadujúca si selektívne pôdy. V likvore je obraz lymfocytárnej pleocytózy.

V liečbe sa podávajú vysoké dávky PNC alebo ampicilínu, v prípade alergie na PNC je alternatívou tetracyklín (doxycyklín).

Borrelia spp.

B. burgdorferi a *B. garinii* spôsobujú neuroboreliózu, ktorej vektorom prenosu sú kliešte a medzihostiteľom zvieratá (myši, hlodavce a iné). Borelióza má 3 klinické štádiá. V prvom štádiu sa v mieste prisatia kliešťa vytvorí kožné začervenanie (erythema migrans), v ďalšom štádiu dochádza k diseminácii a postihnutiu orgánov, vrátane CNS, najčastejšie ako aseptická meningitída, menej často ako syndróm encefalopatie. Tretie štádium je charakterizované chronickými zmenami rôznych orgánov, vrátane CNS.

V likvore môže byť lymfocytárna pleocytóza, často aj s oligoklonálnou skladbou proteínov a prítomnosťou špecifických protilátok. Mikrobiologická laboratórna diagnostika sa zakladá na sérologickom dôkaze protilátok pomocou ELISA alebo IF v sére a likvore. Pri neuroborelióze dochádza k intratekálnej tvorbe protilátok.

Ako konfirmačný test sa používa Western blot. Borélie možno pozorovať po zafarbení anilínovými farbivami vo svetelnom mikroskope.

V liečbe sa môže použiť penicilín alebo tetracyklín (doxycyklín), v neskorších štádiách cefalosporíny 3. generácie intravenózne.

2.2.3.5 Rickettsie a príbuzné baktérie

Ide o skupinu baktérií, ktoré sa vyznačujú charakteristickými a určitými spoločnými vlastnosťami. Patria sem baktérie štyroch čeľadí – *Rickettsiaceae*, *Anaplasmataceae*, *Coxiellaceae* a *Bartonellaceae*. Sú to drobné obligátne intracelulárne baktérie, ktoré sú pre človeka primárne patogény. Sú pôvodcovia zoonóz, ktorých rezervoárom sú stavovce. Spôsobujú generalizované infekcie s postihnutím viacerých orgánov a systémov, v ktorých vyvolávajú granulomatózny zápal. Ako prvým príznakom ochorenia býva vyrážka.

Rickettsie spp.

Baktérie z čeľade Rickettsiaceae (*Rickettia rickettsii*, *Rickettia prowazeki*, *Orientia tsutsugamushi*) sa zle farbia podľa Grama. Ako zle sa farbiace gramnegatívne obligátne paličky až kokobacily tvoria zhluky alebo vláknité útvary detekovateľné svetelnou mikroskopiou. Ako obligátne intracelulárne parazity infikujú zvieratá, človeka aj článkonožce. Vektorom prenosu infekcie sú článkonožce. V mieste vstupu vzniká lokálna lézia (vyrážka) s následnou hematogénnou disemináciou s vývojom vaskulitídy a možných postihnutí aj CNS.

Rickettia rickettsii je pôvodcom horúčky skaliských hôr, ktorej zdrojom sú hlodavci a prenášaťelom kliešte. Infekcia je charakterizovaná horúčkou, bolesťami hlavy, artralgiami a myalgiami s prítomnosťou kožného makulopapulózneho exantému začínajúceho na končatinách so šírením sa na ostatné časti tela. Postihnutie CNS prebieha pod obrazom akútnej meningoencefalitídy, s konvulziami, delíriom až kómou. Charakteristické sú aj encefalomyelitické zmeny, drobné perivaskulárne granulómy, hemorágie a edém mozgu. V likvore môže byť lymfocytárna pleocytóza, často aj proteinúria a hematúria.

Rickettia prowazeki spôsobuje škvrnitý týfus, ktorého prirodzenými hostiteľmi sú stavovce a vektorom prenosu článkonožce (voš, blcha). Ochorenie je charakterizované vysokými teplotami, červenkastým (petechiálnym) makulóznym exantémom, ktorý začína na trupe a šíri sa do periférie, bolesťami hlavy, artralgiami a myalgiami s poškodením CNS, hyperkinézami, delíriom až kómou. Ochorenie sa vyskytuje najmä v oblastiach s nízkou hygienou. Likvor môže byť xantochrómny až krvavý.

Orientia tsutsugamushi je pôvodcom „scrub“ týfusu, ktorého vektorom prenosu sú piesočné blchy. Ochorenie je charakterizované horúčkami, bolesťami hlavy, myalgiami, makulopapulóznym exantémom, lymfadenopatiou, splenomegáliou a postihnutím CNS.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika využíva metódy priameho aj nepriameho dôkazu. Mikroskopické vyšetrenie pomocou svetelnej mikroskopie skôr využíva farbenie preparátu podľa Giemsa z dôvodu slabej farbitel'nosti Gramom. Priamy dôkaz antigénu z bioptického materiálu v okolí vyrážky pomocou špecifických protilátok sa robí najčastejšie pomocou imunofluorescencie. Na priamy dôkaz možno použiť aj PCR. Nepriama diagnostika založená na dôkaze protilátkovej odpovedi sa robí pomocou KFR, nepriamej imunofluorescencie, ELISA alebo mikroaglutinácie.

ATB liečba musí byť nasadená čo najskôr pre rýchlo stúpajúce riziko mortality. Baktérie sú citlivé na tetracyklíny - doxycyklín, prípadne makrolidy, fluorchinolóny a amfenikoly.

Coxiella burnettii

C. burnettii patrí k rickettsiám podobným organizmom, ktorá vyvoláva Q-horúčku. Jej rezervoárom sú domáce a divé zvieratá a prenášačom kliešte. U *C. burnettii* je prenos možný aj inhalačne vdýchnutím prachu alebo požitím mlieka resp. mliečnych výrobkov od infikovaných zvierat. Ochorenie charakterizujú príznaky podobné chrípke s postihnutím respiračného (pneumónia) alebo tráviaceho systému (hepatitída) a meningeálnym dráždením s obrazom meningoencefalitídy alebo s obrazom toxicko-infekčnej encefalopatie.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa využíva priamy dôkaz pomocou PCR ako aj nepriamy sérologický dôkaz (KFR, ELISA).

V liečbe sa používa tetracyklín – doxycyklín v kombinácii s rifampicínom, kotrimoxazolom alebo fluorochinolónmi.

Bartonella henselae

B. henselae patrí k rickettsiám podobným organizmom, ktorá spôsobuje u nás najbežnejšiu bartonelózu tzv. chorobu z mačacieho škrabnutia – felinózu. Jej rezervoárom sú mačky, ktoré môžu byť aj vektorom. Ide o benígne detské ochorenie, ktoré obyčajne aj samo odoznie, avšak vzácne môže diseminovať do pečene, sleziny, oka a CNS. Hlavným príznakom býva regionálna lymadenopatia.

Mikrobiologická diagnostika sa opiera predovšetkým o nepriamy sérologický dôkaz protilátok pomocou IF a ELISA. Môže sa použiť aj priamy dôkaz pomocou PCR. Baktériu je možné kultivovať, avšak kultivácia je náročná a predĺžená.

V liečbe sa používa tetracyklín – doxycyklín, avšak je možné použiť aj makrolidy alebo fluorochinolóny.

3 Vírusové infekcie centrálneho nervového systému

Vírusové infekcie CNS sa vyskytujú zriedkavo a najčastejšie prebiehajú ako benígne, samolimitujúce ochorenia. Napriek tomu sú spojené s rizikom smrti a neurologického poškodenia, pretože nervové tkanivo sa pri poškodení obnovuje pomaly a často nekompletné. Najčastejšie ide o ochorenia ako sú vírusová meningitída, encefalitída a prenosné spongiformné encefalopatie (tabuľka 4). *Aseptická meningitída* sa často používa na označenie benígnej, samolimitujúcej, vírusovej infekcie spôsobujúcej zápal meningov. *Encefalitída* sa týka zápalu parenchýmu mozgového tkaniva a je obvyčajne sprevádzaná poruchami vedomia, alterovanými kognitívnymi funkciami a častými fokálnymi neurologickými príznakmi. *Prenosné spongiformné encefalopatie* (TSEs – transmissible spongiform encephalopathies) sú charakterizované pomaly progredujúcim neurologickým poškodením, gliózou, abnormálnou akumuláciou priónových proteínov v mozgu a chýbaním zápalu. Meningitída a encefalitída predstavujú samostatné klinické entity, avšak medzi týmito odlišnými formami ochorení existuje kontinuum. Zmena klinického stavu pacienta s postihnutím viacerých oblastí CNS môže odrážať progresiu ochorenia. Z tohto dôvodu je v mnohých prípadoch ťažké predpovedať etiológiu a rozsah infekcie CNS.

V prípadoch kombinovanej vírusovej meningoencefalitídy a encefalomyelitídy sa ich klinický obraz môže prelínať.

Akútna vírusová meningitída a meningoencefalitída predstavujú väčšinu vírusových infekcií CNS a často sa vyskytujú v epidémiách alebo majú sezónny výskyt. Enterovírusy sú hlavnou príčinou (približne 90% prípadov) všetkých vírusových meningitíd v krajinách s imunizáciou proti mumpsu. V ostatných krajinách zostáva mumpsová infekcia aj naďalej dôležitou príčinou vírusových infekcií CNS a druhou hlavnou príčinou aseptickkej meningitídy.

Arbovírusy, patriace do skupiny RNA vírusov prenášaných článkonožcami, sú považované za hlavnú príčinu encefalitídy, zatiaľ čo HSV infekcie CNS predstavujú väčšinu jej smrteľných prípadov. Ďalším pôvodcom encefalitídy je vírus besnoty s endemickým výskytom vo väčšine krajín sveta.

Tabuľka 4: Prehľad vírusových infekcií centrálného nervového systému
(modifikované podľa Murray et al., 2016).

Infekcie CNS	Patogény - vírusy
Meningitída	Enterovírusy Echovírusy Coxsackie vírus (najčastejšie) Poliovírus Herpes simplex vírus 2 (najčastejšie) Adenovírus Mumps vírus Lymphocytic choriomeningitis virus Arbovírusy vírusy
Encefalitída	Herpes simplex vírus 1 (najčastejšie) Varicella-zoster vírus Arbovírusy (najčastejšie) Rabies vírus Coxsackievírusy A a B Poliovírusy
Postinfekčná encefalitída (imunitne sprostredkovaná)	Vírus osýpok Mumps vírus Rubeolla vírus Varicella-zoster vírus Vírusy chrípky
Paralýza	Poliovírus Enterovírusy 70 a 71 Coxsackie vírus A7
Iné	JC vírus (progresívna multifokálna leukoencefalopatia u imunosupresívnych jedincov) Varianta osýpok (subakútna sklerotizujúca panencefalitída) Prióny (encefalopatia) Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (AIDS demencia) Ľudský T-bunkový lyfotropický vírus 1 (tropická spastická paralýza)

Postinfekčná encefalitída - akútny demyelinizačný proces, označovaná aj ako akútna diseminovaná encefalomyelitída (Acute Disseminated Encephalomyelitis - ADEM) alebo ako autoimúnná encefalitída, ktorá zahŕňa ďalšie prípady encefalitídy, je asociovaná s predchádzajúcim vírusovým ochorením horných dýchacích ciest (najmä s vírusom chrípky) a varicella vírusmi. V oblastiach, kde sa neočkuje proti osýpkam a mumpsu, ADEM tvorí jednu tretinu prípadov encefalitídy v spojení s exantematóznymi vírusovými infekciami.

Typickým príkladom pomalých vírusových infekcií ako TSEs vyskytujúcich sa sporadicky je Creutzfeldt-Jakobova choroba (CJD). Ochorenie súvisí predovšetkým s konzumáciou hovädzieho mäsa infikovaného chorobou šialených kráv.

Vírusy sa do CNS dostávajú hematogénou a neuronálnou cestou. Väčšina vírusových meningitíd vzniká počas sekundárnej virémie s vysokým titrom protilátok. Vznik a rozvoj vírusovej infekcie CNS závisí od kombinácie mnohých faktorov ako sú faktory hostiteľa, vírusu, sezónne, geografické a epidemiologické. Napríklad enterovírusová meningitída sa vyskytuje vo vyššej frekvencii počas leta a na začiatku jesene vo vzťahu k sezónnemu nárastu enterovírusových infekcií. Pri enterovírusových infekciách zohráva úlohu aj fyziológia hostiteľa vo vzťahu k rozsahu vírusového ochorenia. U detí mladších ako 2 roky môže enterovírusová infekcia viesť k závažným systémovým infekciám ako sú meningitída alebo meningoencefalitída. V tomto veku asi 10% enterovírusových infekcií je fatálnych a približne 76% zanecháva trvalé následky.

Hematogénne šírenie vírusovej infekcie do CNS zahŕňa iniciálnu inokuláciu, lokálne rozšírenie a replikáciu často v regionálnych lymfatických uzlinách (napr. vírus osýpok, vírus chrípky). Vírus potom vstupuje do cirkulácie (primárna virémia), čo umožňuje šírenie vírusu do vzdialenejších miest organizmu. V zriedkavých prípadoch ako je diseminovaná neonatálna HSV infekcia, môže vírus infikovať CNS už počas primárnej virémie. Väčšina vírusov však v tomto štádiu vírusovej infekcie infikuje vzdialenejšie tkanivá ako sú pečeň a slezina, kde sa vírus opäť replikuje a až počas sekundárnej virémie s vysokým titrom protilátok infikuje CNS. Patofyziológia transportu vírusu z krvi do mozgu ako aj vírusový tropizmus endotelových buniek sú veľmi málo objasnené. Vírus infikuje

endotelové bunky, prenikne cez poškodené endotélie, pasívne (pinocytózou alebo koloidným transportom) alebo premostením endotelu počas migrácie leukocytov.

V minulosti šírenie vírusovej infekcie pozdĺž periférnych nervových dráh predstavovalo jedinou cestu jej šírenia. Ako príklad je možné uviesť HSV a vírus besnoty, ktoré spomenutým spôsobom môžu infikovať CNS. V súčasnosti je však hematogénne šírenie vírusovej infekcie považované za hlavný spôsob šírenia a vzniku väčšiny infekcií CNS u ľudí.

Niektoré vírusy priamo neinfikujú CNS, ale ovplyvnením imunitného systému vedú k poškodeniu parenchýmu. Príkladom sú pacienti s postinfekčnou encefalitídou (ADEM), ktorá je považovaná za autoimunitné ochorenie následkom prekonania vírusovej infekcie. Najčastejšie sa objavuje po infekciách ako sú osýpky, VZV, mumps, chrípka a parainfluenza.

TSE infekcie sú nezápalové ochorenia CNS s akumuláciou abnormálnej formy normálneho glykoproteínu – priónového proteínu (PrP). Tieto encefalopatie sa odlišujú spôsobom transmisie – prenosu. Zatiaľ čo, väčšina TSE je experimentálne prenosná priamo inokuláciou do CNS, tento spôsob prenosu sa s výnimkou iatrogénneho prenosu vyskytuje veľmi zriedkavo.

3.1 Mikrobiologická diagnostika vírusových infekcií centrálneho nervového systému – všeobecne

Stanovenie diagnózy vírusovej infekcie CNS si vyžaduje dôslednú anamnézu, poznanie epidemiologických faktorov a diferenciálnu diagnostiku možných ochorení. V minulosti diagnostika vírusových ochorení zlyhávala na diagnostických testoch. Techniky používané na identifikáciu vírusových infekcií CNS boli invazívne, často necitlivé a založené na kultivácii vírusov (vírusy sú nekultivovateľné na umelých mikrobiologických médiách). Nález pleocytózy v likvore sa obyčajne vyskytuje pri encefalitíde, pričom nie je potrebný pre jej diagnostiku. Pri vírusovej encefalitíde je obyčajne zvýšený počet leukocytov, kým hodnoty glukózy v likvore sú vo väčšine prípadov v norme.

Spoločiteľná diagnostika pomocou PCR vyšetrovacej metódy výrazne zlepšila včasnú liečbu pacientov s vírusovou infekciou CNS. Stanovenie vírusovej nukleovej kyseliny v likvore u pacientov so symptómami meningitídy alebo encefalitídy nahradili kultiváciu a sérologickú diagnostiku mnohých infekcií CNS. U vírusov ako HSV, enterovírus, Epstein-Barr vírus (EBV), VZV, JC vírus, ľudský herpesvírus-6 (human herpesvirus-6 – HHV-6) detekcia vírusovej nukleovej kyseliny v likvore PCR metódou alebo reverse transcription PCR (RT-PCR) nahradila kultiváciu a mozgovú biopsiu používané ako štandard diagnostiky encefalitídy. Väčšinu vírusov (vírusových nukleových kyselín) je možné stanoviť pomocou PCR metódy. Existujú však niektoré vírusy (vírusové infekcie prenášané článkonožcami), pre ktoré univerzálne primery pre PCR metodiku sú ešte stále vyvíjané. Molekulárne diagnostické metódy ako PCR značne zlepšili rýchlosť, senzitivitu a špecifickosť diagnostiky vírusových infekcií CNS. Výsledok vyšetrenia je do 24 - 36 hodín, čo skracuje hospitalizáciu a redukuje nadmerné používanie ATB, ako aj potrebu ďalších diagnostických postupov.

Magnetická rezonancia je len podpornou diagnostickou metódou pre stanovenie diagnózy encefalitídy, t.j. diagnóza encefalitídy nie je založená len na samotnom MR vyšetrení. V porovnaní s CT vyšetrením, MR odhalí skôr parenchymálne zmeny a lepšie definuje rozsah poškodenia vrátane demyelinizačných lézií.

Čo sa týka diagnostiky TSEs infekcií, tá je v súčasnosti založená na histologickom vyšetrení, charakteristických zmenách na EEG a MR, prítomnosti proteínu v likvore, ako aj na klinickom obraze. Histopatologické vyšetrenie mozgového tkaniva použitím špecifickej protilátky proti proteáza-rezistentnému priónovému proteínu potvrdí diagnózu ochorenia.

Pri výbere vhodných diagnostických metód používaných v identifikácii vírusových infekčných pôvodcov (tabuľka 5) má veľký význam anamnéza, vrátane cestovnej anamnézy, klinické symptómy, ako aj ročné obdobie, kedy sa infekcia objavila.

3.1.1 Klinický materiál

Odber vhodného klinického materiálu na diagnostiku (tabuľka 5) je často komplikovaný tým, že viaceré vírusy môžu spôsobiť to isté klinické ochorenie.

Príkladom sú arbovírusy, ktoré môžu byť pôvodcami menigitídy, kedy odber klinického materiálu by mal zahŕňať odber likvoru a krvi. Ďalším príkladom sú enterovírusy, ktoré rovnako môžu byť pôvodcami meningitídy, kedy ako klinický materiál by mal byť odobratý likvor, výter z hrdla a stolica. Okrem odberu vhodného materiálu je pri odbere vzoriek dôležitý aj čas odberu. Vzorky by mali byť odobraté čo najskôr, t.j. v akútnej fáze infekcie. Neskôr môže dôjsť k tomu, že sa vírus prestane vylučovať a nebude detekovaný v klinickom materiáli. Napríklad izolácia enterovírusu z likvoru je možná len do 2 až 3 dní po nástupe klinických príznakov zo strany CNS. Rovnako aj produkcia protilátok ako odpoveď organizmu na infekciu môže ovplyvniť detekciu vírusu.

Tabuľka 5: Laboratórna diagnostika vírusových infekcií centrálného nervového systému (aseptická meningitída, encefalitída) (modifikované podľa Murray et al., 2016).

Vírusové infekcie centrálného nervového systému		
Vírusy	Odobraté vzorky	Laboratórna diagnostika
Enterovírus (picornavírus)	Stolica, likvor	RT-PCR
Arbovírusy (togavírusy, bunyavírus)	Krv, likvor	RP-PCR, serológia (multiplex assays/testy pre detekciu viacerých parametrov)
Rabies vírus	Tkanivo, sliny, biopsia mozgového tkaniva, likvor	IF biopsie, RT-PCR
HSV, CMV, mumps vírus, vírus osýpok	Likvor	PCR alebo RT-PCR, izolácia vírusu, detekcia antigénov

CMV – cytomegalovírus; HSV – herpes simplex vírus; IF – imunofluorescencia;
PCR – polymerázová reťazová reakcia, RT-PCR – reverzná transkriptáza –
polymerázová reťazová reakcia

Odobratý klinický materiál by mal byť odoslaný do laboratória čo najskôr. Vo všeobecnosti platí, že čím je kratší časový interval medzi odberom klinického materiálu a jeho doručením do laboratória, tým je väčší potenciál izolácie vírusu. Mnohé vírusy sú labilné a aj odobratý materiál je náchylný na premnoženie baktérií a húb. Klinický materiál s podozrením na vírusovú infekciu by mal byť odobratý do špeciálnych transportných médií s obsahom ATB, antimykotík a proteínov (sérový albumín alebo želatína) a transportovaný v chlade (nie v mraze).

3.1.2 Detekcia a identifikácia

Laboratórna diagnostika vírusových infekcií zahŕňa metódy priameho dôkazu ako sú elektrónová mikroskopia, izolácia vírusu, detekcia vírusových proteínov (antigénov, enzýmov), detekcia vírusového genómu a metódy nepriameho dôkazu na detekciu špecifických protilátok.

3.1.2.1 Elektrónová mikroskopia

Elektrónová mikroskopia (EM) nie je štandardnou diagnostickou metódou používanou v laboratórnej diagnostike vírusových infekcií. Ak je dostupná, používa sa na detekciu charakteristických vírusových častíc špecifickej morfológie niektorých vírusov v odobratej klinickej vzorke. V rámci elektrónovej mikroskopie imunoelektrónová mikroskopia používa špecifické vírusové protilátky, ktoré po pridaní do vzorky a väzbe na špecifické vírusové antigény vedú k vytvoreniu zhlukov - aglutinátov, čo uľahčuje detekciu a identifikáciu vírusov. Využitie elektrónovej mikroskopie pri infekciách CNS má svoj význam v prípade nejasných nálezov, kedy sa inými metódami nepodarí potvrdiť prítomnosť vírusu v odobratom materiáli.

3.1.2.2 Izolácia vírusu

Izolácia vírusu znamená odber vzorky k izolácii vírusu, pomnoženie (kultivácia) vírusu a následný dôkaz vírusu s jeho identifikáciou. Izolácia vírusu umožňuje analýzu ako aj archiváciu vzoriek. Vírusy sú obligátne intracelulárne parazity, preto ich kultivácia je zložitejšia v porovnaní s väčšinou baktérií. Vírusy potrebujú na kultiváciu živé bunky, v ktorých sa môžu pomnožiť. Kultivácia vírusu predstavuje rast vírusu v systémoch určených na rozmnožovanie vírusov ako sú experimentálne zvieratá, kuracie alebo kačacie embryá, orgánové a tkanivové bunkové kultúry. V súčasnosti sa na izoláciu vírusu pre účely diagnostiky používajú len bunkové kultúry. Existujú rôzne typy bunkových kultúr - primárne bunkové kultúry, sekundárne/diploidné bunkové kultúry a bunkové línie, ktoré sa líšia svojimi vlastnosťami. Primárne bunkové kultúry sú získané priamo z darcovských buniek (napr. buniek opičích obličiek). Majú obmedzenú schopnosť delenia a prežitia, pričom umožňujú kultivovať takmer všetky vírusy. Primárne opičie obličkové bunky sú vhodné na izoláciu vírusov ako vírusov chrípky, paramyxovírusov, mnohých enterovírusov a niektorých adenovírusov. Sekundárne bunkové kultúry, ktoré sa získavajú z primárnych buniek pasážou t.j. prenosom časti buniek do nového kultivačného média (napr. ľudské fibroblasty a zárodočné bunky obličiek; približne 30 - 50 pasáží), majú síce vyššiu schopnosť delenia, ale sa používajú na kultiváciu užšieho spektra vírusov. Humánne fetálne diploidné bunky obyčajne fibroblastické sa používajú na izoláciu vírusov ako napr. HSV, VZV, CMV alebo adenovírusov. Bunkové línie majú charakter nádorových buniek (napr. HeLa bunky; nekonečné množstvo pasáží) a sú určené pre kultiváciu len úzkeho spektra vírusov. Humánne nádorové HeLa epiteliálne bunky slúžia na izoláciu adenovírusov a HSV.

Následne je vírus identifikovaný vďaka cytopatologickému efektu (CPE) pomocou hemabsorpcie (infikované bunky priťahujú na svoj povrch erytrocyty, čo sa využíva v diagnostike vírusu influenzy), neutralizácie, imunofluorescencie atď.

CPE je vírusom indukovaná morfológická zmena na bunke v bunkovej kultúre ako dôsledok infekcie bunky vírusom. CPE je možné pozorovať svetelným mikroskopom, rovnako je ho možné určiť aj na tkanivách pri histopatologickom vyšetrení. CPE môže byť špecifický pre určité vírusy (napr. typické inklúzie

pri CMV a HSV, Negriho telieska pri víruse besnoty) alebo nešpecifický – rovnaký pre viaceré vírusy. Vírusom indukovaný CPE môže mať rôzne formy, ako sú: úplná alebo takmer úplná deštrukcia buniek (zmenšené bunky s pyknoickými jadrami; napr. enterovírusy, pikornavírusy, togavírusy, paramyxovírusy), fokálna degenerácia (zväčšené a zaokrúhlené bunky; napr. herpetické vírusy a poxvírusy), zhukovanie a opuch buniek (napr. adenovírusy), vakuolizácia buniek (napr. retrovírusy, paramyxovírusy alebo flavivírusy), syncýciá (mnohojadrové obrovské bunky vzniknuté fúziou susedných buniek; napr. paramyxovírusy, herpesvírusy a HIV), inklúzne telieska v jadre alebo v cytoplazme (spôsobené vírusovými komponentami, charakteristické pre daný vírus; napr. Negriho telieska pri víruse besnoty, intranukleárne inklúzie u HSV, VZV). Diagnostika CPE trvá dlhšie t.j. niekoľko dní, čo súvisí s rýchlosťou replikácie daného vírusu.

Niektoré vírusy nemusia viesť k CPE bunkovej kultúry. Izolácia niektorých vírusov je riziková pre laboratórny personál z hľadiska možnosti infikovania sa. V týchto prípadoch je laboratórna diagnostika vírusov založená na detekcii špecifických vírusových proteínov alebo vírusového genómu alebo dôkaze špecifických protilátok.

3.1.2.3 Dôkaz antigénov

Vírusové antigény môžu byť detekované imunologickými laboratórnymi metódami, ako sú napríklad imunoelektroforéza, imunofluorescencia, imunochromatografia, ELISA, rádioimunoanalýza (RIA), hemaglutinácia a hemadsorpcia alebo LA.

Dôkaz vírusových antigénov u niektorých vírusov ako napr. CMV a iných môže byť vylepšená použitím kombinácie bunkovej kultúry a imunologickej metódy (IF alebo ELISA).

Existujú aj tzv. „bedside testy“ na princípe imunochromatografie, ktoré sa môžu použiť ako rýchlotesty. Ich senzitivita je však nízka, preto negatívny výsledok infekciu nevylučuje.

3.1.2.4 Dôkaz nukleových kyselín

Metódy používané na detekciu vírusového genómu (vírusovej nukleovej kyseliny), t.j. určenie špecifickej genetickej sekvencie vírusu, sú základom pre identifikáciu a klasifikáciu vírusu (rodina, typ, kmeň). Ide o molekulárne metódy, ktoré sú rýchle, vysoko senzitívne a špecifické, ako aj cenovo dostupné pre použitie v bežnej laboratórnej diagnostickej praxi.

Na detekciu vírusového genómu sa používajú PCR, RT-PCR, real-time quantitative PCR (RQ-PCR; označovaná aj kvantitatívna PCR - qPCR), sekvenčne špecifické genetické sondy (DNA sondy) a blotovacie metódy (dot blot alebo Southern blot, Northern blot).

Základom laboratórnej diagnostiky založenej na detekcii vírusového genómu je použitie amplifikačných metód ako je PCR na detekciu DNA genómu a RT-PCR na detekciu RNA genómu s použitím reverznej transkriptázy a real-time PCR, ktorá predstavuje rýchly spôsob kvantifikácie vírusového genómu vo vzorke pacienta tzv. vírusová záťaž. PCR metóda umožňuje použitím vhodných primerov mnohonásobnú amplifikáciu cieľenej sekvencie nukleovej kyseliny v priebehu niekoľkých hodín. PCR sa používa na detekciu mnohých vírusov napr. retrovírusov, herpesvírusov, papovavírusov, ako aj na detekciu malého množstva vírusu vo vzorke a vírusov, ktoré sú ťažko izolovateľné resp. rizikové pre ich izoláciu v bunkovej kultúre. Multiplex PCR umožňuje analyzovať viac vzoriek súčasne, čím môže detekovať niekoľko rôznych vírusov naraz. Na analýzu amplifikovanej vírusovej nukleovej kyseliny možno požiť aj MALDI-TOF MS. Význam PCR v diagnostike vírusových infekcií stále narastá. Z hľadiska infekcií CNS má PCR veľký význam, pretože umožňuje z likvoru prakticky do 2 hodín určiť prítomnosť enterovírusov, HSV, CMV alebo adenovírusov. Problémom PCR je možná kontaminácia vzorky a následne falošná pozitivita výsledku.

DNA sondy predstavujú sekvencie komplementárne k hľadanému špecifickému úseku vírusového genómu. Umožňujú detekovať vírus aj bez jeho replikácie. Používajú sa napr. pri detekcii CMV. Špecifické vírusové genetické sekvencie vo fixovanej bioptickej tkanivovej vzorke môžu byť detekované použitím in situ hybridizácie ako je napr. fluorescencia in situ hybridizácia (FISH). Ďalšími metódami sú blottovacie metódy, pri ktorých vírusová nukleová kyselina alebo jej

fragmenty sú elektroforeticky separované a prenesené na nitrocelulózný filter a detekované ich hybridizáciou s DNA sondami. DNA sondy sú následne detekované imunoanalytickými metódami (ELISA, IF).

3.1.2.5 Dôkaz protilátok

Dôkaz špecifických protilátok (v sére a v likvore) je základným virologickým vyšetrením. Veľký význam má u vírusov, ktoré sú ťažko izolovateľné, ako aj vírusov, ktoré spôsobujú dlhotrvajúce infekcie (EBV, HIV). Sérologické metódy sa používajú na detekciu humorálnej imunitnej odpovede organizmu na infekciu (na špecifický antigén/antigény) t.j. na detekciu protilátok.

Prítomnosť špecifických protilátok, ako aj ich množstvo (titer) umožňujú určiť štádium ochorenia. Vo všeobecnosti platí, že na začiatku infekcie sú detekovateľné ako prvé protilátky, ktoré sa tvoria voči antigénom vírusu, ktoré sú exprimované na jeho povrchu. Neskôr počas trvania infekcie alebo rekonvalescencie sú detekovateľné protilátky proti intracelulárnym vírusovým antigénom, proteínom a enzýmom.

Pri sérologickom vyšetrení protilátok sa odoberajú najmenej dve vzorky tzv. párové séra – prvé akútne a druhé rekonvalescentné v intervale cca 14 dní. Pri primoinfekcii sa ako prvé objavujú IgM protilátky a následne po pár dňoch IgG protilátky. Pri reinfekcii sa zvyšujú IgG protilátky ešte viac ako pri primoinfekcii a IgM protilátky zostávajú nemenné alebo sa zvýšia len mierne. Interpretácia výsledkov sérológie závisí aj od vírusovej etiológie. Väčšinou sa protilátky objavujú s nástupom klinickej symptomatológie, kedy akútnu infekciu charakterizuje prítomnosť IgM protilátok a rastúci titer IgG protilátok.

Ako nevýhody vyšetrenia sú predĺžená doba diagnostiky, skrížená reaktivita (podobnosť antigénov u príbuzných vírusov), čo môže viesť k falošnej pozitivite protilátok, prenos protilátok transfúziou, čo môže byť tiež príčinou falošnej positivity, imunokompromitovaní pacienti s nedostatočnou humorálnou imunitnou odpoveďou, u ktorých môže byť výsledok naopak falošne negatívny.

Pri infekciách CNS je možné a dôležité detekovať protilátky nielen v sére, ale aj v mozgovomiešnom moku. Za fyziologických podmienok je v mozgovomiešnom moku nulové, prípadne minimálne množstvo protilátok. V prípade infekcie CNS (napr. vírusová meningitída, vírusová encefalitída) sa v likvore vyskytujú špecifické protilátky produkované lymfocytmi proti danému vírusovému pôvodcovi. Nález protilátok v likvore je dôležitý v diagnostike infekcií CNS.

Metódy používané v praxi na dôkaz špecifických protilátok proti vírusovej infekcii sú klasické – ELISA, RIA, KFR, Western blot, LA a špecifické pre virológiu – vírus neutralizačný test (VNT), hemaglutinačno-inhibičný test (HIT) a Paul-Bunnellova reakcia (Ericsov test).

Vírus neutralizačný test – pri neutralizácii vírusu špecifickou protilátkou dochádza k inhibícii infekcie a následne aj cytopatologických zmien v tkanivovej kultúre buniek.

Sérum pacienta testované na prítomnosť špecifických protilátok sa zmieša s kultúrou hľadaného vírusu a naočkuje sa ním bunková kultúra. Po inkubačnej dobe sa sleduje prítomnosť cytopatického efektu charakteristického pre daný vírus. Neprítomnosť cytopatického efektu znamená, že vírus nemohol infikovať bunky kultúry, pretože bol neutralizovaný špecifickými protilátkami prítomnými v sére pacienta.

Hemaglutinačno-inhibičný test - prítomné špecifické protilátky zabraňujú väzbe vírusu na indikátorové bunky – erytrocyty. Výsledkom je inhibícia hemaglutinácie (použitie: influenza vírus, adenovírusy, vírus rubeoly, buyavírusy, flavivírusy, a niektoré pikornavírusy).

Paul-Bunelova reakcia (Ericsonov test) – špecifická sérologická metóda na dôkaz heterofilných protilátok, ktoré sa tvoria pri EBV, reagujú s antigénom na zvieracích erytrocytoch a vedú k ich zhlukovaniu.

Western blot má významné uplatnenie ako konfirmačný test napr. pri HIV. Antigénna štruktúra vírusu je elektroforeticky separovaná a prenesená na filtračný papier. V prítomnosti protilátok v sére pacienta dochádza k ich reakcii so špecifickými vírusovými antigénmi. Táto reakcia je vizualizovaná pomocou imunoanalytických metód (napr. ELISA).

Detekcia špecifických protilátok umožňuje identifikovať vírus, určiť jeho kmeň alebo sérotyp, či už pri akútnej alebo chronickej vírusovej infekcii a určiť či ide o primárnu infekciu alebo reaktiváciu.

Ako príklady použitia dôkazu protilátok vo virológii je možné uviesť: EBV, CMV, VZV, vírus rubeoly, vírus osýpok, vírus príušníc, vírus kliešťovej encefalitídy, influenza vírus a adenovírus.

3.2 Pôvodcovia vírusových infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika

3.2.1 DNA vírusy

3.2.1.1 Neobalené DNA vírusy

Polyomavírusy

John Cunningham vírus

U imunokompromitovaných jedincov John Cunningham vírus (JC vírus/JCV) vedie k virémii, prestupu vírusu cez hematoencefalickú bariéru a postihnutiu CNS vo forme progresívnej multifokálnej leukoencefalopatie (PML). Ide o oportúnnu infekciu - demyelinizáciu sprevádzajúcu najčastejšie malígne ochorenia alebo ochorenie AIDS. Ochorenie má obyčajne subakútny priebeh s rozvojom motoricko-senzitívneho deficitu, je spojený s poruchami vyššej mozgovej činnosti a končí letálne.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa využíva dôkaz vírusovej DNA v likvore, v moči alebo v bioptických vzorkách mozgu pomocou PCR alebo imunofluorescencie. V likvore môže byť mierna pleocytóza.

Liečba je symptomatická. Určité prechodné zlepšenie môže nastať po podaní cytarabínu s alfa-interferónom.

Adenovírusy

Adenovírusy sú neobalené DNA vírusy, ktoré majú ikosadeltahedrálnu symetriu. Adenovírusy infikujú najmä deti, zriedkavo dospelých. Prenášajú sa kvapôčkami, orofekálne alebo kontaktom s infekčným materiálom. Spôsobujú infekcie respiračného (akútne respiračné ochorenia, faryngokonjunktiválny febrilný syndróm), gastrointestinálneho (gastroenteritída, hnačky), močového systému (hemoragická cystitída), ako aj infekcie oka (konjunktivitída, keratokonjunktivitída). Komplikáciou infekcií môže byť aj postihnutie CNS prebiehajúce pod obrazom encefalitídy alebo meningeálneho syndrómu s letalitou až 30%.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa využívajú bunkové kultúry na izoláciu vírusu z biologického materiálu, kde možno pozorovať CPE – bunkové inklúzie. Identifikácia vírusu je založená na dôkaze DNA vírusu PCR metódou a dôkaze vírusu imunoanalytickými metódami (ELISA, imunofluorescencia).

Liečba je symptomatická.

3.2.1.2 Obalené DNA vírusy

Herpesvírusy

Herpes simplex vírus

Herpes simplex vírus typ 1 (HSV-1) a herpes simplex vírus typ 2 (HSV-2) sú obalené herpesvírusy s dvojvláknovou DNA, ktoré spôsobujú ochorenie priamym kontaktom, HSV-1 orálnym kontaktom - herpes labialis a HSV-2 sexuálnym kontaktom - herpes genitalis. Herpesvírusy prežívajú v gangliách nervového systému, kde vyvolávajú latentnú infekciu neurónov, ktorá môže byť reaktivovaná pri imunosupresii. Vírus možno dokázať v gangliách *n. trigeminus* a v sakrálnych spinálnych gangliách po prekonaní primárnej infekcie. HSV pri postihnutí CNS je príčinou herpetickej encefalitídy, zriedkavo herpetickej meningitídy. HSV infekcia novorodencov je devastujúca a často smrteľná, spôsobená HSV-2. Prenáša sa na novorodenca pri prechode infikovanými pôrodnými cestami matky.

Pri herpetickej encefalitíde dochádza k asymetrickej deštrukcii – nekróze vo frontálnom alebo temporálnom laloku. V klinickom obraze sú vysoké teploty, príznaky chrípky, zápal nosohltana, poruchy vedomia (obnubilácia), psychické poruchy (halucinácie), konvulzie a motorické poruchy. Býva edém mozgu, najmä mozgového kmeňa. Stav je veľmi vážny, pri fulminantnom priebehu alebo bez liečby končí fatálne.

Odber materiálu zahŕňa obsah pľuzgierov, výter z laryngu, krv, likvor, tkanivo CNS, gangliá.

Priama mikrobiologická laboratórna diagnostika pomocou EM umožňuje zistiť virióny s charakteristickou štruktúrou a veľkosťou. Svetelná mikroskopia identifikuje vírus na základe CPE (balónovitá degradácia buniek, tvorba syncýcií, intranukleové inklúzie) v odobratom materiáli alebo izoláciou vírusu v bunkových kultúrach s následnou identifikáciou vírusu napr. pomocou IF. PCR umožňuje dokázať HSV-DNA vírusu aj z likvoru. Alternatívnou, avšak pomerne nespoľahlivou metódou, je nepriama sérologická diagnostika na základe pozitívnych titrov protilátok pomocou KFR. Pri herpetickej infekcii CNS sa koncentrácia protilátok zvyšuje relatívne neskoro. V likvore je lymfocytárna alebo polynukleárna pleocytóza a erytrocyty.

Objavenie a zavedenie antivirovika acikloviru, ako aj vidarabínu viedlo k výraznému poklesu mortality a morbiditu u pacientov s herpeticou infekciou. Od zavedenia acikloviru a vidarabínu sa napríklad novorodenecká mortalita v dôsledku diseminovanej HSV infekcie a HSE znížila zo 70% na 40 - 30%. Včasná zahájenie antivírusovej terapie je dôležité pre uzdravenie (zotavenie). Pri neliečenej encefalitíde trvajúcej dlhšie ako 4 dni sa prognóza pacienta zhoršuje. Pri HSE infekcii je liečba založená na intravenóznom podávaní acikloviru, pričom perorálne antivirovika by sa v tomto prípade podávať nemali.

V prípade neonatálnej HSV infekcie sa liečba aciklovirom, t.j. dávkovanie, trvanie liečby, ako aj toxicita, líši od liečby HSE dospelých. Percentuálny výskyt perinatálne získanej HSV encefalitídy u novorodencov sa pohybuje okolo 33%. Novorodenci s prítomnosťou dysfunkcie CNS alebo kožných prejavov HSV infekcie by mali byť empiricky liečení vysokými dávkami acikloviru až kým sa HSV

infekcia nevylúči. U novorodencov s lokalizovaným kožným a mukokutánnym ochorením je liečbou voľby intravenózne podávanie acikloviru v dávke 15 mg/kg každých 8 hodín (45 mg/kg/deň) minimálne 14 až 21 dní. Vyššie dávkovanie t.j. 20 mg/kg/deň intravenózne každých 8 hodín (60mg/kg/deň) je indikované u novorodencov s diseminovaným ochorením, ako aj s prítomnosťou neurologického postihnutia. Minimálna dĺžka liečby 14 - 21 dní je indikovaná v prípade neonatálnej HSE. U pacientov s dôkazom vírusovej DNA v likvore aj po štandardnej liečbe aciklovirom, by mala byť liečba predĺžená až do detekcie vírusu v likvore. Liečba aciklovirom je spojená s minimom nežiaducich účinkov. U pacientov, ktorí dostávali vysoké dávky acikloviru v rýchlej infúzii, bol pozorovaný na dávke závislý nefrotoxický účinok antivirotika z depozície kryštálov v obličkách. Tento nežiaduci účinok acikloviru je možné eliminovať striedaním jeho rýchleho a pomalšieho intravenózneho podávania so zabezpečením dostatočnej hydratácie pacienta. Pri liečbe aciklovirom boli pozorované aj poruchy CNS ako halucinácie, dezorientácia a tremor. U detí na dlhodobejšej liečbe aciklovirom bola zaznamenaná neutropénia.

Pri HSV meningitíde spojenej s primárnou HSV-2 infekciou sa odporúča intravenózna liečba aciklovirom, ktorá skracuje trvanie primárnej herpetickej infekcie a má preventívny účinok proti postihnutiu meningov. Výskyt rekurentnej HSV-2 meningitídy je veľmi zriedkavý. Boli evidované len ojedinelé prípady spojené s reaktiváciou HSV-1.

Varicella-zoster vírus

Varicella zoster vírus (VZV) patrí medzi obalené herpesvíruses s dvojvláknovou DNA. Prenáša sa inhalačnou cestou, slinami, aj kontaktom s vyrážkou. Infikuje epiteliálne bunky, fibroblasty, T-lymfocyty aj neuróny a vedie k virémii. Spôsobuje dve klinicky rôzne infekcie, a to kožnú primoinfekciu – varicela (ovčie kiahne) a herpes zoster infekciu (pásový opar) ako následok reaktivácie perzistujúceho latentného vírusu ovčích kiahní v nervových gangliách. Primárna infekcia – ovčie kiahne je charakterizovaná tvorbou charakteristických vyrážok - pľuzgierov na koži (makulo-papulo-vezikulo-pustulózne kožné exantémové prejavy), často aj so zvýšenou teplotou. Po prekonaní primárnej infekcie vírus perzistuje v latentnej

forme v nervových gangliách (spinálnych gangliách a gangliách hlavových nervov). Pri oslabení organizmu môže dôjsť k reaktivácii infekcie vo forme pásového oparu (herpes zoster) charakterizovaného tvorbou bolestivého exantému v príslušnom kožnom dermatóme so zdurením regionálnych lymfatických uzlín. VZV môže spôsobiť postinfekčnú encefalitídu, seróznú meningitídu, cerebrálnu vaskulitídu a ventrikulitídu. Okrem postinfekčnej encefalitídy, väčšina VZV CNS prejavov je zriedkavá a postihuje najčastejšie imunokompromitovaných pacientov.

Odber materiálu na vyšetrenie predstavuje obsah pľuzgierikov, krv a likvor.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa môžu použiť metódy priameho dôkazu vírusu ako sú priamy dôkaz vírusu pomocou EM, dôkaz špecifického antigénu vírusu napr. imunodifúziou a dôkaz vírusovej DNA metódou PCR. CPE vírusu (syncýciá, inklúzie) možno dokázať v odobratom materiáli alebo izoláciou vírusu v bunkových kultúrach s následnou identifikáciou vírusu napr. pomocou IF.

Nepriama laboratórna diagnostika sa opiera o sérologický dôkaz špecifických protilátok IgM a IgG, obvyčajne pomocou KFR, zriedkavejšie pomocou IF alebo NT.

Podanie varicella imunoglobínu (už nie je k dispozícii) a acikloviru viedlo k poklesu komplikácií primárnej VZV infekcie, infekcie herpes zoster u novorodencov a imunokompromitovaných pacientov. Aciklovir sa naďalej bežne používa na liečbu týchto komplikácií VZV infekcií. Empirická liečba cerebrálnej vaskulitídy s postihnutím veľkých ciev je založená na intravenóznom podávaní acikloviru v dávke 10 - 15 mg/kg/každých 8 hodín po dobu 10 dní, v kombinácii s prednisonom v dávke 60 - 80 mg po dobu 3 - 5 dní. Encefalitída s postihnutím malých ciev by mala byť liečená i.v. aciklovirom v dávke 5 - 10 mg/kg každých 8 hodín minimálne 10 dní. Komplikáciou akútnej VZV infekcie, obzvlášť u imunokompromitovaných pacientov môže byť myelitída, ktorá sa prejavuje paraparézou za 1 - 2 týždne po kožných prejavoch. MR vyšetrením možno vidieť signifikantné postihnutie miechy. V likvore nachádzame zápalový infiltrát a zvýšené hladiny proteínov. Dôkaz prítomnosti VZV alebo špecifických protilátok

v likvore PCR metódou je potvrdením diagnózy VZV CNS infekcie. Liečba VZV encefalitídy aciklovirom i.v. zlepšuje klinický stav pacienta.

Epstein-Barr vírus

Epstein-Barr vírus (EBV) je obalený DNA vírus, ktorý patrí medzi herpesvírusy. Vírus sa prenáša priamym kontaktom, najčastejšie orálne slinami. Je pôvodcom ochorenia infekčnej mononukleózy. Infekcia môže prebiehať asymptomaticky, alebo klinicky ako katar horných dýchacích ciest s horúčkou, s hnisavým zápalom tonzíl, so zdurením lymfatických uzlín, obyčajne aj s postihnutím sleziny a pečene. Pri komplikovanom priebehu dochádza k postihnutiu aj nervového systému. Pri postihnutí CNS ide obyčajne o aseptickú meningitídu alebo akútnu encefalitídu, vzácnejšie myelitídu. Infekcia môže mať vzťah k Burkittovmu lymfómu.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa ako skriningová metóda používa dôkaz heterofilných protilátok pomocou Paul-Bunnetlovej reakcie alebo IM testu, ktorých princípom je priama hemaglutinácia. Na diagnostiku primoinfekcie, reaktivácie infekcie, chronickej infekcie alebo prekonania infekcie sa používa stanovenie špecifických protilátok IgM a IgG proti špecifickým antigénom vírusu metódou ELISA.

Liečba je symptomatická.

Cytomegalovírus

Cytomegalovírus (CMV) je obalený DNA vírus patriaci do skupiny herpesvírusov. Bránou vstupu je respiračný systém alebo horná časť GITu, kde dochádza k pomonoženiu vírusu a následnému hematogénemu rozsevu. Vírus prezistuje v bunkách slinnej žľazy, obličkových tubuloch a leukocytoch a môže sa vylučovať slinami, močom, cervikálnym sekrétom a materským mliekom. Primárna infekcia u imunokompetentných jedincov je väčšinou bezpríznaková, ďalej vírus prežíva v organizme v latentnej forme. V prípade imunosupresie môže dôjsť k infekcii resp. reaktivácii ochorenia. Reaktivácia u imunosuprimovaných jedincov môže byť príčinou encefalitídy. Infekcia sa môže preniesť aj počas intrauterinného vývoja plodu z tehotnej ženy (primárna infekcia, reinfekcia alebo reaktivácia latentnej infekcie) transplacentárne na plod alebo aj počas pôrodu z tehotnej na

novorodenca. Vrodená cytomegalovírusová infekcia spôsobuje ťažké postihnutie CNS.

Nepriama mikrobiologická laboratórna diagnostika je len orientačná, využíva dôkaz špecifických protilátok IgG, IgM, prípadne IgA. Priamy dôkaz vírusu je založený na dôkaze DNA vírusu PCR metódou, ktorá je citlivejšia a rýchlejšia v porovnaní s kultiváciou vírusu na bunkových kultúrach, kde môžeme pozorovať CPE – jadrové inklúzie.

Na liečbu cytomegalovírusovej infekcie sa používajú ganciclovir a foscarnet, hoci úspešnosť ich liečby je minimálna. V prípade kongenitálnej cytomegalovírusovej infekcie bol pozorovaný mierny protektívny účinok pred stratou sluchu u novorodencov, ktorým bol podávaný ganciklovir počas prvých 6 mesiacoch života.

Poxvírusy

Vírus varioly

Medzi poxvírusy patrí vírus varioly, pôvodca **pravých kiahní – varioly**. Infekcia bola očkovaním eradikovaná. Bránou vstupu boli dýchacie cesty s následnou disemináciou do lymfatického a krvného systému s poškodením kože (makulo-papulo-pustulózne eflorescencie) a vnútorných orgánov ako pečene, sleziny a pľúc. Najčastejšou komplikáciou bolo postihnutie CNS s obrazom akútnej diseminovanej encefalomyelitídy s letalitou cca 30%.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika bola založená na izolácii vírusu z biologického materiálu (kuracie embryá, bunkové kultúry) a prítomnosti špecifických protilátok.

Liečba bola založená na aktívnej imunizácii.

Vírus vakcínie

Je laboratórne alterovaný poxvírus, ktorý bol použitý ako vektor pre expresiu pri produkcii živých rekombinantných hybridných vakcín. Vyvolával komplikácie po očkovaní ako aj encefalitídu.

3.2.2 RNA vírusy

3.2.2.1 Neobalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou

Pikornavírusy

Enterovírusy

Enterovírusy patria medzi pikornavírusy. Zahŕňajú poliovírusy, coxsakie vírusy a echovírusy. Cesta vstupu do organizmu je cez horné dýchacie cesty alebo cez GIT. Infekcia sa prenáša fekálno-orálnou cestou, zriedkavejšie respiračnou cestou. Môžu infikovať rôzne tkanivá a orgány (kožu, svaly, pečeň, srdce), vrátane CNS (mozgu a mozgových obalov).

Poliovírusy

Vyvolávajú **detskú obrnu – poliomyelitis anterior acuta**. Vo vyspelých krajinách ochorenie aktívnou imunizáciou prakticky vymizlo, v rozvojových krajinách sa však naďalej vyskytuje. Ochorenie prebieha vo veľkej väčšine prípadov inaparentne. Symptomatický priebeh ochorenia začína nešpecifickými príznakmi pripomínajúcimi chrípku. Neskôr v dôsledku virémie dochádza k postihnutiu nervového systému buď v podobe neparalytickej (meningeálnej) formy alebo paralytickej formy ochorenia. Pri postihnutí CNS vírus preniká do predných rohov miechy, do motorických centier v mozgu, ako aj mozgových obalov (aseptická meningitída). Do CNS sa môže vírus šíriť aj pozdĺž nervových vlákien.

Coxsakie vírusy

Coxsakie vírusy sú príčinou rôznych klinických príznakov, pričom postihnutý môže byť aj nervový systém. Pri postihnutí CNS môže ísť o syndróm seróznej (aseptickej) meningitídy, označovaný ako „letná chrípka“, ktorý môže prebiehať ako syndróm poliomyelitis anterior acuta alebo ako obraz akútnej meningoencefalitídy najčastejšie s cerebelárnou symptomatológiou.

Echovírusy

Echovírusy môžu infikovať rôzne orgány ako napríklad pečeň, slezinu, srdce, pľúca, vrátane CNS. Infekcia začína nešpecifikovanými príznakmi s miernym vzostupom teploty. Najčastejším klinickým obrazom býva gastroenteritída,

makulárne exantémy alebo katary horných dýchacích ciest. V prípade postihnutia CNS býva najčastejším klinickým obrazom syndróm aseptickéj meningitídy.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike enterovírusov sa využíva izolácia vírusu z biologického materiálu s následnou identifikáciou vírusu imunoanalytickými metódami, ako sú ELISA alebo IF. Sérologická diagnostika je založená na dôkaze špecifických protilátok IgM alebo štvornásobného titra protilátok. V likvore býva v akútnom štádiu polymorfonukleárna pleocytóza, ktorá sa po pár dňoch mení na lymfocytárnu pleocytózu.

Špecifická liečba enterovírusových infekcií nie je dostupná. Liečba je symptomatická. V liečbe enterovírusovej infekcie sú testované v animálnych modeloch protilátkové preparáty ako aj antivirotiká (pleconaril). Kontrolné štúdie zatiaľ nepotvrdili ich použitie v prípade enterovírusovej meningitídy.

3.2.2.2 Obalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou

Flavivírusy

Sú prenášané na človeka artropódami t.j. kliešťami, komármi, roztočmi z rôznych cicavcov a vtákov, ktoré sú ich rezervoárom, preto sú označované aj ako arbovírusy (arthropod-borne virus). Všetky flavivírusy sú sérologicky príbuzné, preto protilátky proti jednému vírusu môžu neutralizovať ostatné vírusy. Väčšinou spôsobujú rôzne encefalitídy, pre ktoré je charakteristický geografický a sezónny výskyt. Patria sem vírusy kliešťovej encefalitídy, vírus japonskej encefalitídy, vírus horúčky dengue, vírus žltej zimnice, vírus Zika.

Vírusy kliešťovej encefalitídy

U nás sa endemicky vyskytuje **stredoeurópska kliešťová encefalitída**. Vektorom prenosu je kliešť *Ixodes ricinus*. Rezervoárom sú divé, ale aj domáce zvieratá. Ochorenie môže prebiehať inaparentne alebo môže mať typický dvojfázový priebeh. V klinickom obraze je zvýšená teplota až horúčka, bolesti kĺbov a svalov (1. fáza chrípkových príznakov). Neskôr sa objavujú príznaky zo

strany CNS ako sú bolesť hlavy, nauzea, zvracanie, poruchy spánku až poruchy vedomia (2. fáza meningoencefalitídy s rôznym stupňom klinického postihnutia t.j. meningitída, meningoencefalitída, encefalomyelitída až najzávažnejšia bulbárna forma.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika zahŕňa vyšetrenie likvoru s pleocytózou a sérologické vyšetrenie špecifických protilátok IgM a IgG metódou ELISA.

V prevencii je možnosť aktívnej imunizácie alebo pasívnej imunizácie hyperimúnnym humánnym gamaglobulínom. Liečba je symptomatická.

Ruská jarno-letná kliešťová encefalitída je podobná stredoeurópskej kliešťovej encefalitíde, vyskytuje sa na východ od Uralu, spôsobuje ťažké meningoencefalitídy, ktoré môžu zanechať trvalé následky – paralýzy alebo môžu byť aj smrteľné. Vektorom prenosu je kliešť *Ixodes persulcatus*. Klinický obraz charakterizuje rýchly nástup príznakov a prudký priebeh. Ako postencefalitický následok sa môže objaviť za niekoľko mesiacov až rokov od prekonania ochorenia epilepsia.

V likvore je pleocytóza. V laboratórnej diagnostike sa používa sérologické vyšetrenie.

Liečba je symptomatická, možné je podanie humánneho gamaglobulínu.

Vírus Japonskej encefalitídy

Japonská encefalitída sa vyskytuje v epidémiách koncom leta v Ázii – od Pakistánu na východ po Japonsko, až k Austrálii. Rezervoárom sú vtáci a prasce, vektorom prenosu komáre rodu *Culex* a *Aedes*. Väčšina infekcií prebieha inaparentne. Pri symptomatickom priebehu ide o akútne horúčkovité ochorenie s rozvojom encefalitídy. Postihuje najmä pyramídový a extrapyramídový systém, mozoček, miechu a mozgový kmeň. Ochorenie môže viesť k reziduálnemu neurologickému poškodeniu, vážny až smrteľný priebeh býva u detí a starých ľudí.

Mikrobiologická diagnostika využíva metódy nepriameho dôkazu pomocou sérologických vyšetrení (dôkaz IgM). Možný je aj priamy dôkaz z krvi alebo likvoru metódou PCR. Pri vyšetrení likvoru býva nález aseptickéj meningitídy.

Liečba je symptomatická. Prevencia je možná pomocou aktívnej imunizácie.

Vírus horúčky dengue

Horúčka dengue je celosvetovo najčastejšia arboviróza u ľudí v endemických tropických oblastiach (Južná a Stredná Amerika, Afrika, Južná a Juhovýchodná Ázia) a tiež druhá najčastejšia horúčka po návrate z týchto oblastí. Prenášačom sú najčastejšie komáre rodu *Aedes*. Hlavným hostiteľom a najväčším rezervoárom sú ľudia alebo opice. Primoinfekcia prebieha inaparentne alebo ako horúčkové ochorenie – horúčka dengue s výraznou myalgiou a artralgiou s rashom a lymfadenopatiou. Komplikáciou býva myokarditída a postihnutie CNS (degeneratívne zmeny, často s hemorágiami). Sekundárna infekcia iným ako pôvodným sérotypom vírusu je nebezpečná, kedy prebieha ako hemoragická horúčka dengue s rozvojom kognitívneho deficitu alebo šokového syndrómu s multiorgánovým zlyhaním.

Mikrobiologická diagnostika môže využívať metódy priameho dôkazu ako PCR z krvi ako aj nepriameho dôkazu protilátok IgM a IgG.

Liečba je symptomatická. Prevenciou je vakcína a preventívne opatrenia proti uštipnutiu komárom.

Vírus žltej zimnice

Žltá zimnica je nebezpečné vírusové ochorenie s vysokou mortalitou patriace medzi najčastejšie hemoragické horúčky s endemickým výskytom v oblastiach rovníkovej Afriky a Južnej a Strednej Ameriky. Ide o arbovirózu prenášanú komármi rodu *Aedes* a *Haemagogus*. Rezervoárom je človek alebo opice. Ochorenie môže prebiehať inaparentne alebo môže mať toxický priebeh, často končiaci smrťou, kedy okrem postihnutia pečene, obličiek a myokardu, dochádza k postihnutiu aj mozgu – hyperémia meningov, drobné hemoragické ložiská a petéchie s rozvojom multiorgánového zlyhania.

Hlavnou metódou mikrobiologickej diagnostiky je priamy dôkaz z krvi pomocou PCR alebo dôkaz antigénov z krvi metódou ELISA. Nepriamy dôkaz zahŕňa dôkaz protilátok v pozdejšom štádiu ochorenia.

Cielená liečba nie je k dispozícii. Prevenciou je očkovanie pred vstupom do endemickej oblasti.

Vírus Zika

Ide o vírus, ktorý sa vyskytuje v rovníkových oblastiach Afriky a západnej Ázie, ako aj v Strednej a južnej Amerike. Ide o arbovirózu, prenášanú komármi rodu *Aedes*. Primoinfekcia prebieha obyčajne inaparentne alebo menej často ako nešpecifické horúčkovité ochorenie s vyrážkou, konjunktivitídou, myalgiami a altralgiami. Popísané sú aj neuropatie a myelitídy. Infekcia v tehotenstve môže viesť k potratu, k predčasnému pôrodukongenitálnym malformáciám a mikrocefalii.

Prevencia v podobe očkovania neexistuje. Prevenciou je plošné ničenie komárov.

Togavírusy

Medzi togavírusy patria alfavírusy a rubivirus (Rubella virus). Niektoré togavírusy sú tzv. arbovírusy tzn., že ich životný cyklus prebieha v článkonožcoch a stavovcoch, na ktoré sú prenášané vektorom – hmyzom.

Alfavírusy

Americké konské encefalitídy (venezuelská, západná a východná) spôsobujú alfavírusy patriace medzi arbovírusy s rozdielnou antigénnou štruktúrou, ktoré cirkulujú medzi vtákmi a cicavcami a na človeka sú prenášané komármi. Ide o panencefalitídy.

Rubivirus

Vírus rubeoly (Rubella vírus)

Vírus rubeoly spôsobuje exantémové ochorenie nazývané **rubeola (ružienka)**, prenášané respiračnou cestou. Človek je jediným hostiteľom. Infekciu obyčajne charakterizuje droбноškvrnitý začervenaný výsev - rush s febríliami a lymfadenopatiou. Niekedy môžu pretrvávať artralgie a artritídy, zriedkavo trombocytopenická purpura s krvácajúcimi stavmi. Postihnutie CNS môže prebiehať akútne alebo chronicky. Akútne postihnutie CNS sa objavuje pár dní (2-6 dní) po objavení sa výsevu a môže mať obraz aseptického meningitídy, akútnej

encefalitídy alebo vzácnejšie myelitídy. Chronický priebeh sa označuje aj ako postinfekčná progresívna rubeolózna panencefalitída (obraz SSEP) s poruchami hybnosti, hyperkinézami a psychickou deterioráciou, ktorá v priebehu niekoľkých rokov (2-10 rokov) končí letálne. Pri postihnutí plodu ide o kongenitálny rubeolový syndróm charakterizovaný vývinovými poruchami (poruchy rastu, mikroftalmia, hluchota, katarakta, chorioretinopatia a defekty iných orgánov) s najväčším rizikom v prvom trimestri tehotenstva.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na nepriamom dôkaze – sérologii (dôkaz IgM a IgG protilátok).

Cielená virostatická liečba nie je k dispozícii. Prevenciou je povinné očkovanie MMR vakcínou.

Retrovírusy

Lentivírusy

Vírus HIV-1 a HIV-2

HIV (human immunodeficiency virus) je retrovírus patriaci do skupiny lentivírusov, ktorý spôsobuje ochorenie **AIDS** (acquired immunodeficiency syndrome). Vyskytuje sa v antigénnej forme HIV-1, ktorá má celosvetové rozšírenie a antigénnej forme HIV-2, ktorá sa vyskytuje hlavne v západnej Afrike. Infekcia sa prenáša hematogénne najčastejšie pri sexuálnom styku, ďalej pri poranení, krvnými derivátmi alebo transplacentárne. Vírus HIV napáda CD4⁺ Th lymfocyty a ich receptory. CD4 receptory sú prítomné v povrchových membránach mnohých typov buniek, ako aj neurónov a buniek glie mozgu. Dochádza k lymfocytopénii CD4⁺ Th lymfocytov a inverzii pomeru CD4/CD8. Po asymptomatickej alebo akútnej infekcii so sérokonverziou (séropozitivita), dochádza k rôzne dlhému obdobiu tzv. biologickej latencie, kedy infekcia HIV je chronická perzistujúca. Toto obdobie môže kedykoľvek vystriedať ďalšia replikácia vírusu s progresiou infekčného ochorenia. Poškodenie imunity zahŕňa aj poškodenie B-lymfocytov a makrofágov, čoho následkom sú špecifické sekundárne oportúnne infekcie a špecifické sekundárne neoplázie. Z oportúnnych infekcií ide o vírusové infekcie (herpes vírus, varicella zoster vírus, cytomegalovírus, Epstein-Barrovej vírus, vírus hepatitídy B), bakteriálne infekcie (pyogénne – najčastejšie stafylokoky,

salmonely, Mycobacterium tuberculosis, Treponema pallidum, listérie), mykotické infekcie (Cryptococcus, Candida, Coccydia, Aspergillus, Zygomycetes, Histoplasma) a parazitárne infekcie (toxoplazmóza, Acanthamoeba, Taenia solium, Trypanosoma cruzi). Z neoplázií sa vyskytuje Hodgkinov alebo non-Hodgkinov lymfóm, lymfomatoidná granulomatóza a Kaposiho sarkóm.

Patogenéza infekcie HIV a postihnutie CNS nie je úplne jasná. Pravdepodobne sa vírus HIV šíri do CNS cez hematoencefalickú bariéru prostredníctvom infikovaných makrofágov cez leptomeningeálne priestory, vaskulárny epitel a plexus chorioideus. Klinické prejavy postihnutia nervového systému zahŕňujú chronickú rekurentnú meningeálnu pleocytózu, syndróm subakútnej encefalitídy alebo subakútnej encefalopatie (organické mozgové syndrómy s AIDS demenciou; organické mozgové syndrómy označované ako multisystémová degenerácia – leukoencefalopatia, najčastejšie ako subakútna alebo chronická encefalopatia alebo encefalitída; cerebrovaskulárne príhody hlavne ischemické), chronickú progresívnu myelopatiu, postihnutie kraniálnych a periférnych nervov a vegetatívneho systému.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika infekcie HIV zahŕňa sérologický dôkaz vírusového antigénu – antigén obalu vírusu označovaný p24 a vírusových protilátok (IgM a IgG). Komplexné imunologické vyšetrenie odhalí lymfocytózu, trombocytopéniu, inverziu pomeru CD4/CD8, prípadne aj atypické lymfocyty, poruchu funkcie B-lymfocytov, makrofágov, prítomnosť zvýšených hodnôt cirkulujúcich imunokomplexov. V diagnostike má význam PCR, avšak presnejší je Western blot test. V akútnom štádiu v mozgovomiechovom moku je mierna pleocytóza lymfocytárneho typu.

Nad liečbou dominuje prevencia infekcie. V liečbe sa používajú antiretrovírusové látky.

3.2.2.3 Obalené jednovláknové RNA vírusy s negatívnou polaritou

Ortomyxovírusy

Influenza vírus

Do skupiny myxovírusov patrí aj ortomyxovírus chrípky – influenza vírus rôznych typov a subtypov na základe štruktúry povrchových antigénov spôsobujúci **chrípku**. Chrípka patrí medzi najrozšírenejšie vírusové ochorenia, ktorej zdrojom je chorý človek. Priebeh infekcie je obyčajne mierny, avšak v prípade komplikácií najmä pľúcnych a CNS môže končiť letálne. Inkubačná doba je niekoľko hodín resp. 1-3 dni. Ochorenie je charakterizované febríliami, katarom horných dýchacích ciest, myalgiami a artralgiami. Pri postihnutí CNS býva najčastejšou komplikáciou akútna encefalída s prudkým začiatkom, poruchou vedomia – obnubiláciou, závratom, excitáciou a diseminovanou symptomatológiou. Encefalomyelitída býva zriedkavá. Histopatologicky sú pri postihnutí CNS prítomné ischemické zmeny, ktoré môžu viesť k nekróze gangliových buniek mozgu a perivaskulárne lymfocytárne infiltráty. Inklúzie nie sú prítomné.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa používa dôkaz vírusu zo sterov sliznice nosohltanu a sérologické vyšetrenie (KFR, HIT). V likvore je prítomná pleocytóza.

Prevenciou u rizikových skupín je očkovanie. Liečba je symptomatická. U rizikových jedincov sa podáva komplexná imunomodulačná liečba a antibiotiká ako prevencia pred bakteriálnou superinfekciou.

Paramyxovírusy

Vírus osýpok (Morbilli vírus)

RNA vírus zo skupiny paramyxovírusov spôsobuje **osýpky** - morbilli. Prenáša sa kvapôčkovou infekciou. Inkubačná doba je 10-14 dní. Infekcia začína febríliami s postihnutím dýchacích ciest, kde sa vírus rozmnožuje. Následne dochádza k virémii s postihnutím lymfatického systému a kože. Na koži (za ušami, na šiji, hrudníku a bruchu) pozorujeme typický veľkoškvrnitý splývajúci kožný výsev – rush. V ústnej dutine sú prítomné Koplikovove škvrny. Pri miernom priebehu infekcie dochádza k ústupu vysokých teplôt a postupnému zotaveniu. Pri

vážnejšom priebehu infekcie môžu nastať komplikácie – ušné, pľúcne, črevné, srdcové alebo nervové. Infekcia patrí do skupiny neurokutánných infekcií, preto komplikácie zo strany CNS môžu mať rôzny charakter, ako napríklad toxicko-infekčná encefalopatia, encefalitída a encefalomyelitída. Akútna alebo perakútna encefalitída sa objavuje 3-5 dní po vzniku exantému a často končí letálne, subakútna encefalitída vzniká s časovým odstupom 1 – 6 mesiacov po infekcii, najmä u imunokompromitovaných jedincov a subchronická alebo chronická encefalitída začína s odstupom niekoľkých rokov. Pri osýpkach ďalšou komplikáciou môže byť subakútna sklerotizujúca panencefalitída (SSPE), ktorá sa u detí a adolescentov objavuje s odstupom 5-7 rokov po infekcii a obyčajne do 3 rokov končí letálne. Histopatologicky sú prítomné perivaskulárne lymfoplazmocytné infiltrácie vedúce ku gliovej reakcii a demyelinizácii. V oligodendrocytoch sú prítomné intranukleárne a intraplazmatické inklúzie s prítomnosťou aj vírusových častíc. V klinickom obraze sú zmeny správania, poruchy intelektu, hyperkinézy, epileptické záchvaty, demencia, kachexia až kóma.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa využíva dôkaz prítomnosti vírusu z krvi, zo sterov sliznice nosohltanu, spojiviek alebo imunofluorescenčný dôkaz vírusového antigénu zo sterov. Sérologické vyšetrenie (KFR, HIT) je zamerané na dôkaz špecifických IgM protilátok. V likvore býva mierna lymfocytárna pleocytóza.

Prevenciou infekcie je povinné očkovanie - aktívna imunizácia MMR vakcínou. V prípade CNS komplikácií sa používajú kortikosteroidy, sedatíva, antiedémová liečba, imunomodulačná liečba a vitamíny.

Vírus parotitídy (Mumps vírus)

Ďalší RNA vírus zo skupiny paramyxovírusov spôsobuje **zápal príušných žliaz - mumps, parotitis epidemica**. Hostiteľom je chorý človek. Prenos infekcie je kontaktom alebo kvapôčkovou infekciou s chorým človekom. Inkubačná doba je 2-3 týždne. Infekcia je charakterizovaná teplotou a zdurením príušných žliaz a aj slinných žliaz. Niekedy môže byť postihnutá aj štítna žľaza a pankreas. Ako komplikácie sú orchitídy a ooforitídy. Čo sa týka postihnutia CNS, môže ísť o syndróm aseptickkej meningitídy. Komplikáciou môže byť akútna encefalitída s postihnutím hemisfér alebo mozgového kmeňa.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika

V likvore býva pleocytóza polynukleárneho typu, neskôr s prevahou lymfocytov a zvýšené likvorové proteíny.

Prevenciou infekcie je povinné očkovanie - aktívna imunizácia MMR vakcínou. V prípade postihnutia CNS s rozvojom edému sa používajú kortikosteroidy a antiedémová liečba.

Rabdovírusy

Lyssa vírus

Vírus besnoty (Rabies vírus)

Do skupiny rabdovírusov patrí RNA vírus – lyssa vírus - vírus besnoty spôsobujúci ochorenie označované ako **besnota** (lyssa, rabies). Ochorenie sa prenáša z infikovaných zvierat na človeka. V mieste uhryznutia dochádza k pomnoženiu vírusu, ktorý sa pozdĺž nervových vlákien šíri do spinálnych ganglií a predných rohov miechy, kde sa ďalej množí a šíri do mozgového kmeňa a mozgových hemisfér, najmä do kôry limbického systému. Vírus sa pozdĺž nervových vlákien šíri aj do rohovky, slinných žliaz, orgánov, slizníc a kože. Postihnutie CNS predstavuje polioencefalitídu. Inkubačná doba je pomerne dlhá, niekoľko týždňov až mesiacov. V klinickom obraze sa striedajú psychické zmeny ako nervozita, depresie, anxióza, dezorientácia, záchvaty zmätenosti, agresivita, mánia. Je prítomná hydrofóbia. Zvyšuje sa svalový tonus, objavujú sa kŕče svalstva, najmä laryngeálneho a dýchacieho systému. Prítomné sú poruchy hybnosti končatín, paralýza svalstva, aj dýchacieho, čo je pre jedinca fatálne.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na dôkaze vírusu zo slín. V likvore je pleocytóza.

V rámci prevencie existuje aktívna imunizácia, ktorá sa môže kombinovať aj s pasívnou imunizáciou – podaním humánneho hyperimúnného gamaglobulínu. Liečba je symptomatická.

Post-expozičná profylaxia je jedinou prevenciou u jedincov, ktorí boli vystavení vírusu besnoty. Jedinci, ktorí prišli do kontaktu s vírusom besnoty si vyžadujú

intenzívne a dôkladné očistenie rany, pasívnu imunizáciu v mieste uhryznutia zvierateľom (priame podanie hyperimmunoglobulínu besnoty – rabies hyperimmunoglobulin) a post-expozičnú intramuskulárnu vakcináciu (human diploid cell vaccine or rhesus diploid cell vaccine) v prvý deň s opakujúcimi sa dávkami na 3, 7, 14 a 28 deň po iniciálnej dávke. Jedinci, ktorí prichádzajú často do kontaktu s potencionalne rizikovými zvieratami (veterinári, kontrolný personál zvierat, cestovatelia – endemické oblasti, pracovníci v laboratóriách s vírusom besnoty) by mali dostať pre-expozičnú vakcináciu.

Bunyavírusy

Bunyavírusy (vírus kalifornskej encefalitídy, La Cross vírus) spôsobujú **systémové hemoragické horúčkovité ochorenia** obyčajne s postihnutím mozgu vo forme encefalitídy. Sú prenášané hmyzom tzv. arbovírusy. Vyvolávajú virémiu s progresiou ochorenia a následnej diseminácie vírusových partikul do cieľových orgánov – CNS, pečeň, obličky, endotel ciev.

V priamej mikrobiologickej diagnostike sa využíva PCR na identifikáciu vírusovej RNA a VNT. Nepriama mikrobiologická diagnostika s vyšetrením IgM protilátok sa používa na potvrdenie akútnej infekcie. Na identifikáciu počas virémie sa využíva ELISA.

Špecifická terapia nie je dostupná.

Arenavírusy

Arenavírusy spôsobujú zoonózy – perzistentné infekcie u hlodavcov.

Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy

Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy je pôvodcom **lymfocytárnej choriomeningitídy** (LCM), ktorá patrí medzi aseptické meningitídy. Ochorenie začína katarom horných dýchacích ciest, niekedy až s pneumóniou, myalgiami a artralgiami. Neskôr nastupujú vysoké teploty, bolesti hlavy, zvracanie, s obrazom meningeálneho syndrómu, niekedy aj s postihnutím mozgu, prípadne miechy.

V laboratórnej diagnostike je možný priamy dôkaz vírusu z biologického materiálu napr. z výteru hrdla, prípadne likvoru alebo nepriamy dôkaz špecifických protilátok. Pri práci s infekčným materiálom platí ochranný stupeň č. 3.

Liečba je symptomatická. Prevenciou je hygiena a dodržiavanie bezpečnostných zásad pri práci so zvieratami.

3.2.2.4 Prióny

Prióny sú infekčné glykoproteíny, ktoré na rozdiel od živých organizmov neobsahujú nukleové kyseliny. Za normálnych okolností sú prítomné v neurónoch zdravých jedincov, avšak v patologických podmienkach sa môžu stať rezistentnými voči pôsobeniu proteolytických enzýmov. Môžu byť tak príčinou degeneratívneho postihnutia nervového tkaniva. Pôvodcovia prionóz alebo prenosných špongioformných encefalopatií sú nielen rezistentní na pôsobenie tepla a žiarenia, ale aj na pôsobenie nukleáz.

Všetky prionózy majú dlhú inkubačnú dobu (2 mesiace – 30 rokov) a pomalý priebeh ochorenia spojený s postihnutím CNS. Nie je známa ich účinná terapia ako aj špecifická profylaxia.

Podstatou patogenézy prionových ochorení je premena glykoproteínu PrP^C na PrP^{SC}. So sekvenciou 235 aminokyselín a molekulovou hmotnosťou 33 až 35 000 sa proteín PrP^{SC} nachádza vo všetkých jadrových bunkách, zatiaľ čo konštitučne sa exprimuje len v neurónoch.

Typický neuropatologický obraz smrti neurónov, špongiózneho postihnutia tkaniva mozgu, gliózy a astrocytózy bez prítomnosti zápalu je sprevádzaný klinickými symptómami demencie, ataxie, myoklonusu, kómy a smrti postihnutých jedincov.

Diagnostika je obvykle klinická a histopatologická. Imunologicky je možné dokázať agens z nezrazenej krvi s EDTA v Národnom referenčnom centre. Ako už bolo vyššie spomenuté, špecifická terapia neexistuje. Ochorenie sa prenáša parenterálne infikovaným tkanivom kontaminovanými vektormi ako sú transplantáty, rohovky, nástroje po mozgových operáciách, mozgové sondy, rituálny kanibalizmus.

K známym prionózam zvierat patrí klusavka (ev. scrapie) oviec a kôz a bovinná špongiformná encefalopatia (BSE) postihujúca hovädzí dobytok. K prionózam človeka môžeme zaradiť **Creutzfeldtovu-Jakobovovu chorobu (CJD)**, **fatálnu familiárnu insomniu (FFI)**, **kuru** a **Gerstmannov-Sträusslerov-Scheinkerov syndróm (GSS)**.

CJD bola nezávisle od seba popísaná Creutzfeldtom a Jakobom v rokoch 1920-1921. Dokonca niektoré patomorfologické zmeny potvrdil v roku 1929 Heidenhein, preto môžeme ochorenie nájsť aj pod názvom Heidenheinova choroba. Názov subakútna spongiformná encefalopatia dobre koreluje s typickými morfológickými zmenami, zatiaľ čo názov presenilná demencia zohľadňuje obraz progredujúcej demencie u postihnutých jedincov stredného veku. Ochorenie sa najčastejšie začína medzi 50. – 60. rokom života, ale môže sa objaviť aj u mladších alebo starších jedincov. Úvodné klinické príznaky, spojené s únavou, psychickými zmenami, emočnou labilitou, poruchami kognitívnych funkcií, poruchami zraku, môžu prerásť až do problémov s rovnováhou, chôdzou, hybnosťou končatín, demenciou. V 80-90% prípadov môže ochorenie progredovať v priebehu 1 roka až do letálneho konca.

Diagnostika ochorenia je ťažká. Vyšetrením likvoru získame len nešpecifické zmeny, na EEG býva difúzne abnormálny záznam, v období rozvoja ochorenia môžeme zaznamenať typický obraz periodických výbojov hrotov a vysokovoltážnych pomalých vln v intervaloch 0,5-2,0 sekundy, imunologické vyšetrenie vysvetlí klinický obraz, na CT a MRI býva obraz mozgovej atrofie. Jediným skutočným dôkazom ochorenia je biopsia mozgu.

Aj keď liečba ochorenia nie je známa, v súčasnosti sú už vo vývoji monoklonálne protilátky PRN 100, ktoré boli úspešne klinicky skúšané na malej vzorke pacientov s CJD. Veľmi dôležitá je prevencia v kontakte zdravotníckeho personálu v styku s pacientom, ako aj v práci s experimentálnymi zvieratami, pretože prenosný agens je veľmi rezistentný na vonkajšie vplyvy. Agens môže dokonca prežívať aj niekoľko týždňov a mesiacov v explantovaných orgánoch (napr. rohovka).

FFI je autozomálne dominantné genetické ochorenie spojené s mutáciou PrP génu priónnej bielkoviny na kodóne 178. Ochorenie je možné pozorovať už medzi

40. a 60. rokom života. V klinickom obraze dominuje ťažká porucha rytmu spánku a bdenia pacientov, ktorá je vždy smrteľná v priebehu 7. – 18. mesiacov.

V diagnostike má rozhodujúci význam neurologický nález, biopsicky je možné potvrdiť astrogliózu, znásobené tvorenie vakuol v astrocytoch a oligodendrocytoch, pri dlhšom priebehu ochorenia aj usadzovanie amyloidov a zvýšenú priepustnosť hematoencefalickej bariéry. V mozgovom tkanive je možné dokázať charakteristickú priónovú bielkovinu PrP^{SC}.

Kuru je ochorenie domorodcov oceánskej krajiny Papua Nová Guinea pravdepodobne spojené s kanibalizmom. Po prvý-krát bolo popísané Carleton Gajdusekom a Vincentom Zigasom už v roku 1957. Prenášalo sa transmisibilným agensom prítomným v mozgu, ale aj v obličkách, slezine a lymfatických uzlinách. Ochorenie malo afebrilný pomalý progresívny priebeh s klinickými príznakmi tremoru, ataxie a astázie v stoji, porúch koordinácie, hyperkinéz, konvergentného strabizmu. Taktiež bolo sprevádzané demenciou s priemerným trvaním 12. mesiacov a vždy končilo letálne. Pre typický nález patomorfologických zmien v mozočku sa označuje názvom spongiformná encefalopatia. Likvorový nález býva normálny, na EEG sú prítomné len nešpecifické zmeny.

GSS patriaci do skupiny autozomálne dominantných genetických ochorení bol po prvý-krát zaznamenaný v roku 1928. Začína sa poruchami spánku, ale rýchlo progreduje do tremoru, chorey a cerebrálnej ataxie, myoklónií a epileptických záchvatov. Pacienti zomierajú do niekoľkých mesiacov až 2 rokov v stave decerebrácie.

4 Mykotické infekcie centrálneho nervového systému

Mykotické infekcie zahŕňajú infekcie kvasinkové a plesňové, spôsobené mikroskopickými hubami t.j. kvasinkami a plesňami. Mnohé medicínsky významné huby sú označované ako dimorfné huby (*Blastomyces*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *Histoplasma*, *Sporothrix*), pretože sa môžu vyskytovať aj vo forme kvasiniek aj vo forme plesní (*in vivo* t.j. pri teplote 37°C sa vyskytujú ako kvasinky a *in vitro* t.j. pri teplote 25°C ako plesne). Z klinického hľadiska sú mykózy podľa tkanív, ktoré postihujú klasifikované na povrchové, kožné a podkožné, systémové (endemické) a oportúnne. Z taxonomického hľadiska môžeme medicínsky významné huby rozdeliť do 4 základných skupín resp. kmeňov, a to Ascomycota (Ascomycetes), Basidiomycota (Basidiomycetes), Glomeromycota (Mucormycetes, staršie označenie Zygomycetes) a Microspora (Microsporidia).

Pôvodcami mykotických infekcií sú obyčajne obligátne patogény, ale niekedy to môžu byť aj oportúnne patogény. Mykotické infekcie vyvolané obligátnymi patogénmi pre človeka (napríklad histoplazmóza, blastomykóza, kokcidiomykóza a parakokcidiomykóza) sú infekcie, pri ktorých sa infekčný agens dostane do organizmu z vonkajšieho prostredia a je schopný vyvolať infekciu, a to aj u zdravých jedincov. Oportúnne mykotické infekcie (napríklad aspergilóza, kandidóza, kryptokokóza, mukormukóza, nokardióza a podobne) sú infekcie, pri ktorých oportúnny pôvodca ako súčasť fyziologickej mikroflóry človeka, vyvolá infekciu, a to najčastejšie u imunokompromitovaných jedincov alebo u hospitalizovaných jedincov so závažným základným ochorením. U týchto skupín jedincov (pacienti po transplantácii, onkologickí pacienti, pacienti po chemoterapii, jedinci s AIDS, pacienti po invazívnych zákrokoch), oportunistické patogénne huby predstavujú príčinu signifikantnej morbidity, ako aj mortality.

Mykotické infekcie sa často vyskytujú v dôsledku prítomnosti určitých predispozičných faktorov, ktorými môžu byť napríklad vek, stres, ochorenie, znížená imunita, úraz a podobne. Mykózy prenosné z človeka na človeka sú dermatofytózy a kandidózy. Ostatné mykózy sú prenesené len z vonkajšieho prostredia.

Endemické a oportúnne mykózy, ojedinele aj podkožné môžu diseminovať a v CNS vyvolať meningitídy, meningoencefalitídy, tvorbu granulómov alebo abscesov, ako aj arteriálnu trombózu (tabuľka 6). Priebeh infekcií môže byť akútny, subakútny alebo chronický.

Tabuľka 6: Prehľad mykotických infekcií centrálného nervového systému (modifikované podľa Murray et al., 2016).

Infekcie centrálného nervového systému	Patogény - huby
Meningitída	<i>Candida spp.</i> , <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Mucormycetes</i> (zriedkavé), <i>Coccidioides immitis/posadasii</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Blastomyces dermatitidis</i> (zriedkavé), <i>Rhodotorula spp.</i> , <i>Blastoschizomyces capitatus</i> , <i>Talaromyces (Penicillium) marneffe</i>
Mozgový absces	<i>Candida spp.</i> , <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Mucormycetes</i> , <i>Scedosporium apiospermum</i> , <i>Trichosporon spp.</i> , <i>Trichoderma spp.</i> , dematiaceózne formy plesní (predovšetkým <i>Cladophialophora bantiana</i> a <i>Bipolaris hawaiiensis</i>), endemické dimorfné huby (zriedkavé)

4.1 Mikrobiologická diagnostika mykotických infekcií centrálného nervového systému - všeobecne

Mikrobiologická laboratórna diagnostika mykotických infekcií je založená na správnom odbere vhodného klinického materiálu (tabuľka 7) a jeho rýchleho transportu do laboratória. Odber má byť aseptický, s odberom dostatočného množstva klinického materiálu odobratého do sterilnej nepriepustnej odberovej súpravy aj s anamnézou pacienta.

Tabuľka 7: Laboratórna diagnostika mykotických infekcií centrálného nervového systému (modifikované podľa Murray et al., 2016).

Mykotické infekcie centrálného nervového systému			
Huby	Odobraté vzorky	Metódy odberu	Laboratórna diagnostika
<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Scedosporium</i> , <i>dematiaceózne formy plesní</i> , <i>Mucormycetes</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i>	Likvor	Sterilne	Mikroskopia, kultivácia, detekcia antigénov (<i>Cryptococcus</i>)
	Biopsia	Sterilne, nesterilne na histopatológiu	Mikroskopia, kultivácia
	Sérum	Sterilne	Detekcia antigénov (<i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> a <i>Histoplasma</i>)

4.1.1 Klinický materiál

Mozgovomiechový mok sa odoberé lumbálnou punkciou – asepticky, do sterilnej skúmavky v minimálnom množstve 1 ml. Transport do laboratória má byť okamžitý. Ak nie je možné vzorku doručiť okamžite, uskladní sa pri izbovej teplote na tmavšom mieste. Odoberatý likvor možno uskladniť aj v chladničke. V likvore nachádzame pleocytózu, zvýšenú hladinu proteínov a zníženú hladinu glukózy.

Krv na hemokultúru sa odoberá podľa teplotnej krivky a pri triaške v objeme 10 ml do každej hemokultivačnej nádoby. Prvá vzorka krvi sa odoberá na začiatku stúpania teploty resp. cca 1 hodinu pred očakávaným maximálnym vzostupom teploty; druhá vzorka hodinu po odbere prvej vzorky. Odoberaté vzorky krvi je možné uskladniť pri izbovej teplote, a čo najskôr transportovať do laboratória.

Pre dôkaz špecifických antigénov odoberáme krv aj na prípravu séra.

Bioptická vzorka resp. sterilne odoberaté tkanivo treba vložiť do sterilnej odberovej nádoby, a čo najskôr doručiť do laboratória.

4.1.2 Detekcia a identifikácia

Laboratórna diagnostika mykotických infekcií je založená na základných bežne používaných mikrobiologických metódach (svetelná mikroskopia, kultivácia, identifikácia, stanovenie citlivosti na antimykotiká), histopatologických metódach (bežné a špeciálne farbenia, priama imunofluorescencia, in situ hybridizácia) a imunologických metódach (detekcia špecifických antigénov a protilátok). Táto diagnostika môže byť ešte doplnená molekulárnymi metódami (priama detekcia nukleovej kyseliny, kmeňová typizácia) a biochemickými metódami (dôkaz metabolitov, enzýmov, komponentov bunkovej steny).

Imunologické a molekulárne metódy sú často využívané na identifikáciu endemických dimorfných húb.

4.1.2.1 Mikroskopia

Priamy mikroskopický dôkaz odoberátého biologického materiálu predstavuje základný krok pre rýchlu diagnostiku mykóz. Mikroskopický dôkaz kvasiniek alebo

hyfálnych štruktúr vieme takto získať v priebehu niekoľkých minút, zatiaľ čo kultivačný dôkaz až za niekoľko dní resp. týždňov. V niektorých prípadoch mikroskopické vyšetrenie slúži nielen na dôkaz prítomnosti mykózy, ale na základe určitých mikroskopických morfológických charakteristík aj na jej identifikáciu. Napríklad detekcia charakteristických cýst, kvasinkových buniek alebo sferúl pri infekciách *H. capsulatum*, *Blastomyces dermatitis* alebo *C. immitis/posadasii*. Mikroskopický nález morfológie pri *Candida*, *Mucormycetes* slúži k určeniu typu infekcie (kandidóza, mukormykóza), nie na určenie druhu pôvodcu infekcie.

Kvasinky resp. huby rastúce vo forme kvasiniek je možné detekovať mikroskopicky. Plesne resp. huby rastúce vo forme plesní je možné identifikovať na základe tvaru, usporiadania konídií alebo spór, veľkosti a vzhľadu hýf mikroskopicky obyčajne počas kultivácie v bločkoch ryžového agaru. Niektoré plesne možno detekovať aj pomocou fluorescenčnej mikroskopie. Výhodou mikroskopického vyšetrenia je rýchlosť diagnostiky, orientačné určenie pôvodcu infekcie a nízka cena, avšak nevýhodou je malá senzitivita tzn. negatívny mikroskopický nález nevylučuje infekciu.

Na mikroskopický dôkaz húb v klinickom materiáli sa používajú rôzne farbenia a mikroskopické techniky.

Odobratý materiál sa spracúva pridaním 10% **KOH** ešte pred mikroskopovaním, čím sa rozrušia všetky nemykotické štruktúry, a umožní sa tak detekcia vlastných mykotických organizmov.

Svetelná mikroskopia používa **Gramovo farbenie** alebo **Giemsa-Romanowski farbenie**.

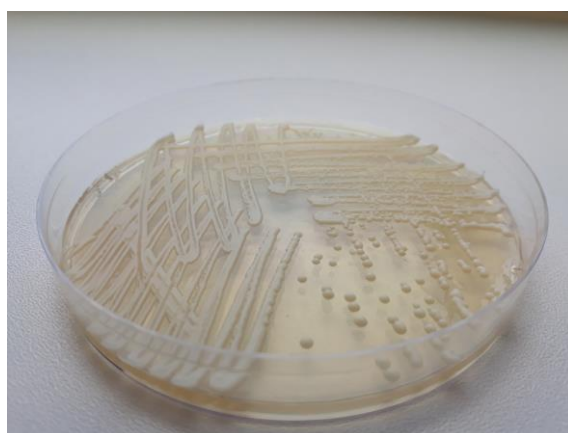
Gramovo farbenie je vhodné na detekciu kvasiniek rodu *Candida* alebo rodu *Cryptococcus* a vláknitých húb rodu *Aspergillus*. Vo všeobecnosti sú huby typicky grampozitívne, avšak môžu byť aj škvrnito zafarbené resp. gramnegatívne. Nezafarbí sa ním *P. jiroveci* a rovnako niektoré vláknité huby (mukormycéty). **Giemsa-Romanowski farbenie** sa špeciálne používa na detekciu intracelulárnych kvasinkových foriem *Histoplasma capsulatum* a *P. jiroveci*.

Fluorescenčná mikroskopia používa **fluorescenčné farbenie kalkofluórom**. Fluorescenčné farbivo (kalkofluor) zabarbí bunkovú stenu húb, ktorá vo fluorescenčnom mikroskope fluoreskuje. Táto metóda slúži na ľahšiu a rýchlejšiu detekciu.

Farbenia ako H&E (Hematoxylin and Eosin), GMS (Gomori Methenamine Silver – Grocott-Gomori striebrenie), PAS reakcia (Periodic Acid-Schiff) sa používajú na detekciu húb v histopatológii.

4.1.2.2 Kultivácia

Kultivačný dôkaz húb je považovaný za zlatý štandard v diagnostike mykotických infekcií. Je najcitlivejší pre detekčnú diagnostiku a často aj identifikáciu pôvodcov mykotickej infekcie. Odoberatý klinický materiál často obsahuje len malé množstvo pôvodcu, ktorého je potrebné pomnožiť na vhodnom kultivačnom médiu. Odporúča sa na kultiváciu použiť minimálne 2 rôzne typy kultivačných médií – neselektívne a selektívne. Huby narastú na väčšine médií používaných aj pre baktérie, avšak ich rast v porovnaní s baktériami je spomalený, čím sa predlžuje kultivácia, preto sa na kultiváciu húb používajú špeciálne selektívne kultivačné pôdy ako sú **Sabouraudov dextrózový agar** (SDA) alebo **BHI** (brain-heart infusion) **agar** alebo **SABHI agar**.



Obrázok 10 Kultivácia *Candida albicans* na Sabouraudovom dextrózovom agare (Ústav mikrobiológie a imunológie JLF UK Martin)

SDA agar (obrázok 10) je špeciálna selektívna pôda určená na kultiváciu húb. Nízke pH a prítomnosť antimikrobiálnych látok vytvára vhodné podmienky pre rast húb tým, že zlepšuje množenie patogénnych húb a inhibuje rast kontaminujúcich baktérií.

BHI agar Kultivačne náročné dimorfné huby ako *H. capsulatum* a *B. dermatitidis* vyžadujú BHI agar obohatený krvou. Často sa do tohto média pridáva aj cykloheximid, ktorý inhibuje rýchlejšie rastúce kvasinky a plesne, ktoré mohli kontaminovať vzorku a rovnako inhibuje aj rast monhých oportunistických húb ako sú *Candida* a *Aspergillus*, ktoré môžu byť pôvodcami oportúnnych mykóz, na čo netreba zabúdať.

Kultivácia odobratého biologického materiálu umožňuje izoláciu pôvodcu infekcie s následnou identifikáciou a určením citlivosti na antimykotiká. Kultivácia väčšiny húb je pri teplote 25°C až 30 °C, iné ako napr. hemokultúry *Candida sp.* pri teplote 35° až 37 °C. Kultivačné platne by mali byť zabezpečené voči dehydratácii. Kultivácia je v porovnaní s baktériami predĺžená tzn. pre kvasinky 48-72 hodín a plesne 72 a viac hodín, pri niektorých až niekoľko týždňov. Kultivácia krvi pri podozrení na invazívnu mykotickú infekciu je vo všeobecnosti 2 týždne pri teplote 37°C, pričom väčšina hemokultúr je pozitívna do 5 – 7 dní. Kvasinky obyčajne rastú v okrúhlych, nepriehľadných alebo mukózných kolóniách. Kolónie plesní sú veľké, vláknité odlišujúce sa v štruktúrou, farbou a topografiou. Prítomnosť kvasiniek alebo plesní v primárne sterilných materiáloch ako sú hemokultúra, likvor a bioptické vzorky má veľmi vysokú prediktívnu hodnotu.

4.1.2.3 Biochemická analýza

Auxanogram sa používa v diferenciálnej diagnostike húb na základe ich schopnosti asimilovať cukry a dusíkaté látky. Rast kmeňa je stimulovaný okolo disku s príslušným substrátom.

Zymogram sa používa na dôkaz štiepenia cukrov s tvorbou kyseliny a plynu.

Test na dôkaz tvorby germinálnych tubulov (Germ tube test – GT test) je identifikačný diagnostický test používaný na dôkaz a odlíšenie *C. albicans* od

ostatných kvasiniek. Vyšetrovaná kultúra sa zmieša so sérom a inkubuje sa pri teplote 37°C niekoľko minút. So suspenzie sa pripraví natívny preparát na mikroskopické vyšetrenie. Prítomnosť neseptovaných germinujúcich tubulov/hýf je charakteristické pre *C. albicans*.

Chromogénny agar (CHROMagar) je selektívne pôda pre huby s obsahom chromogénov, ktorá umožňuje detekovať enzymatickú aktivitu určitých druhov kvasiniek s následnou ich identifikáciou, a to podľa charakteristického zafarbenia ich kolónií (CHROMagar Candida).

Rýchly test na trehalózu (rapid trehalose test - RTT) sa používa na identifikáciu *C. glabrata*.

Rýchly kolorimetrický test sa používa na detekciu L-prolín aminopeptidázy a beta-galaktóza-amidázy *C. albicans*.

4.1.2.4 Dôkaz antigénov a metabolitov

Dôkaz špecifických antigénov húb, ako aj ich metabolitov v sére a iných telesných tekutinách, predstavuje najlepší priamy dôkaz v diagnostike niektorých invazívnych mykotických infekcií.

Polysacharidový kapsulárny antigén *C. neoformans* možno dokázať pomocou LA a ELISA v diagnostike kryptokokovej meningitídy.

Polysacharidový antigén bunkovej steny *H. capsulatum* možno dokázať pomocou RIA a ELISA v diagnostike diseminovanej histoplazmózy.

Kandidový antigén - manán, glykoproteín bunkovej steny kvasiniek, ktorý sa uvoľňuje do telesných tekutín, vrátane séra, kde sa dá stanoviť pomocou LA, RIA, ELISA. Jeho stanovenie je nápomocné v diagnostike invazívnych kandidóz. V organizme sa proti nemu vytvárajú špecifické protilátky.

Aspergilový antigén - galaktomanán, heteropolysacharid bunkovej steny *Aspergillus spp.* uvoľňovaný do séra a telesných tekutín, kde sa dá stanoviť LA, ELISA, RIA. Jeho dôkaz má vysokú špecifitu, slúži na detekciu invazívnej aspergilózy. V organizme sa proti nemu vytvárajú špecifické protilátky.

Panfugálny antigén - beta-glukán je hlavný polysacharid bunkovej steny mikroskopických húb, ktorý sa uvoľňuje do telesných tekutín len pri ich raste. Jeho stanovenie sa využíva v diagnostike invazívnej kandidózy a aspergilózy.

D-arabinitol - metabolit detekovaný v sére pri hematogénne diseminovanej kandidóze.

D-manitol - metabolit detekovaný pri pľúcnej aspergilóze.

4.1.2.5 Dôkaz nukleových kyselín

Diagnostiku mykotických infekcií výrazne zlepšili molekulárno-diagnostické metódy založené na hybridizácii, amplifikácii a sekvenovaní nukleových kyselín patogénnych húb v klinickom materiáli, ktoré predstavujú potenciálnu diagnostickú hodnotu pre väčšinu bežných oportunistických a systémových hubových patogénov ako sú PCR, PNA FISH testy (peptide nucleic acid – fluorescence in situ hybridization), MALDI-TOF MS.

PCR je priama metóda na detekciu mykotických nukleových kyselín z klinických vzoriek, ktorá slúži k rýchlej diagnostike mykotických infekcií, čo je významné z hľadiska pomalejšej kultivácie húb.

PNA FISH testy sú založené na použití fluoresceínom značenej PNA sonde, ktorá špecificky detekuje jednotlivé druhy kvasiniek (*Candida spp.*) alebo skupinu kvasinkových druhov v krvnej kultúre na základe zachytenia druhovo špecifických rRNA sekvencií. Preparáty sú vyšetrené pomocou fluorescenčnej mikroskopie. Tieto rýchle testy majú vysokú senzitivitu (99%), ako aj špecificitu (100%).

MALDI-TOF MS využíva druhovo špecifické vzory peptidov/proteínov na identifikáciu mikroorganizmov. Metóda je rýchla a veľmi presná nielen v identifikácii baktérií, ale aj kvasiniek a plesní z kultúry.

4.1.2.6 Dôkaz protilátok

Detekcia titra špecifických protilátok v sére je významná v diagnostike mykotických infekcií, ako aj v monitorovaní progresie ochorenia a odpovede na liečbu. S výnimkou nižšie uvedených testov na stanovenie špecifických protilátok, väčšina testov má ale nedostatočnú senzitivitu a špecifitu v diagnostike invazívnych hubových infekcií.

Antimanán je protilátka proti manánu *Candida spp.*. Jej dôkaz použitím EIA spolu s dôkazom špecifického antigénu je nápomocný v diagnostike invazívnych kandidóz.

Antigalaktomanán je protilátka proti galaktomanánu *Aspergillus spp.*. Jej dôkaz použitím EIA spolu s dôkazom špecifického antigénu je nápomocný v diagnostike aspergilózy.

Dôkaz precipitačných protilátok imunodifúziou má svoje využitie pri systémových mykózach ako sú histoplazmóza a kokcidiodomykóza.

Pri všetkých sérologických metódach je potrebné pozitívny nález potvrdiť opakovaným vyšetrením, a to z dôvodu falošných pozitív.

4.1.2.7 Stanovenie citlivosti na antimykotiká

Stanovenie citlivosti húb na antimykotiká v podmienkach *in vitro* je založené na rovnakom princípe, ako aj použitiu rovnakých testov ako pri stanovení citlivosti baktérií na antibiotiká, čím je umožnený selektívny výber antimikrobiálnych látok účinných proti pôvodcovi infekcie.

4.2 Pôvodcovia mykotických infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika

Keďže klasifikácia húb je komplikovaná a nejednotná, existuje viacero klasifikácií v mykológii: taxonomická (Chytridiomycota, Zygomycota, Basidiomycota a Ascomycota), systematická (zastaralá, pomenovanie každej huby jedným menom), klinická (používaná v klinickej praxi; povrchové, kožné a podkožné, systémové a oportúnne mykózy) a morfológicko-klinická (používaná v klinickej mikrobiológii; kvasinkové mikromycéty, vláknité mikromycéty, dimorfné mikromycéty a *Pneumocystis jiroveci*).

V klinickej praxi je zaužívaná klinická klasifikácia húb. Z hľadiska mikrobiológie je najpraktickejšia klasifikácia kombinovaná t.j. morfológicko-klinická, ktorá kombinuje morfológické aj klinické aspekty húb. Z uvedených dôvodov sa zameriame práve na tieto dve klasifikácie.

Klinická klasifikácia húb rozdeľuje mykózy povrchové, podkožné, systémové a oportúnne. Vo vzťahu k CNS, podkožné mykózy vedú k postihnutiu CNS len ojedinele, čo môže byť spojené s disemináciou mykotickej infekcie. V rámci postihnutia CNS sa uplatňujú predovšetkým systémové a oportúnne mykózy.

Podkožné (subkutánne) mykózy

Podkožné mykózy postihujú hlbšie vrstvy kože, podkožné tkanivo, svaly a kosti. Vo všeobecnosti majú chronický priebeh a zlú odpoveď na liečbu mnohými antimykotikami. Vyvolávatelia podkožných mykóz majú obyčajne nízky patogénny potenciál. Najčastejšie ide o ochorenia po traumatickej inokulácii z pôdy, dreva, odumierajúcich vegetácií ako sú **sporotrichóza** alebo **lymfokutánna sporotrichóza** (*Sporothrix shenckii*), **chromoblastomykóza** (*Cladophialophora/Cladosporium*, *Fonsecaea*, *Phialophora*, *Rhinocladiella*, *Exophiala*), **eumykotický mycetóm** (*Phaeoacremonium*, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Madurella*, *Exophiala*, *Curvularia*, *Mediacopsis*, *Biotrophia*, *Trematosphaeria*, *Falciformispora*), **subkutánna entomoforomykóza/subkutánna mukormykóza/subkutánna zygomykóza** (*Conidiobolus coronatus*, *Basidiobolus ranarum/haptosporus*) a **subkutánna**

faeohyfomykóza (*Exophiala*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Phaeoacremonium*, *Phialophora*, *Bipolaris*), ktoré vyvolávajú tvorbu abscesov, nehojajúcich sa vredov a drénujúcich sínusov a len veľmi zriedkavo diseminujú s postihnutím aj iných orgánov, vrátane CNS, kde môžu byť príčinou zápalových granulómov, cýst alebo drobných abscesov.

V laboratórnej diagnostike sa používa predovšetkým biopsia s mikroskopickým a histologickým vyšetrením bioptickej vzorky a prípadne sérologické testy. V liečbe sa podáva itraconazol, flukonazol, posakonazol, vorikonazol alebo flucytozín.

Systémové (endemické) mykózy

Systémové mykózy označované aj ako endemické mykózy sa vyskytujú v určitých endemických oblastiach a sú zapríčinené obligátne patogénnymi dimorfnými hubami. Postihujú imunokompromitovaných jedincov (HIV, AIDS a iné imunosupresie), no sú schopné vyvolať infekciu aj u zdravých jedincov. Vykazujú tepelný dimorfizmus t.j. pri teplote 37°C sa vyskytujú ako kvasinky a pri teplote 25°C ako plesne. Patria tu **kokcidioidomykóza** (*Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*), **parakokcidioidomykóza** (*Paracoccidioides brasiliensis*), **blastomykóza** (*Blastomyces dermatitidis*) a **histoplazmóza** (*Histoplasma capsulatum*). Po inhalácii spór z prostredia (obyčajne z pôdy), spôsobujú primárnu infekciu v pľúcach s následnou disemináciou do iných orgánov a tkanív, vrátane CNS.

Oportúnne mykózy

Oportúnne mykózy - **kandidóza** (*Candida*), **aspergilóza** (*Aspergillus*), **kryptokokóza** (*Cryptococcus*), **mukormykóza** (*Rhizopus*, *Mucor*) a ďalšie sú vyvolané oportúnnymi hubami, ktoré sú súčasťou fyziologickej mikroflóry jedinca ako ľudské komenzály, alebo sú prítomné v prostredí s veľmi nízkou virulenciou a so schopnosťou vyvolať ochorenie predovšetkým u imunokompromitovaných jedincov (výnimkou je *Cryptococcus*). Medzi najčastejšie oportúnne patogénne huby patria kvasinky *Candida spp.* a *C. neoformans*, a plesne *Aspergillus spp.* *C. neoformans* je z dôvodu svojej bezprostrednej výraznej virulencie často považovaný aj za systémového patogéna. Hoci môže spôsobiť ochorenie aj

u imunokompetentných jedincov, častejšie sa uplatňuje ako oportúnny patogén u imunokompromitovaných jedincov.

Mikrobiologická - kombinovaná morfologicko-klinická klasifikácia húb rozdeľuje huby do štyroch základných skupín, a to kvasinkové mikromycéty, vláknité mikromycéty, dimorfné mikromycéty a *Pneumocystis jiroveci*.

Kvasinkové mikromycéty sú jednobunkové mikroorganizmy, guľovitého, oválneho alebo pretiahlého tvaru a sú väčšie v porovnaní s baktériami. Rozmnožujú sa pučaním. Kvasinky tvoria aj pseudohýfy. Medicínsky významné z hľadiska postihnutia CNS sú rody *Candida* a *Cryptococcus*.

Vláknité mikromycéty sa rozdeľujú do štyroch podskupín, a to dermatofyty, zygomycety, rýchlo rastúce hyalinné mikromycéty tvoriace konídie a mikromycéty čeľade *Dematiaceae*. Z hľadiska postihnutia CNS majú svoje uplatnenie zygomycéty/mukormycéty rodov *Mucor* a *Rhizopus* a zo skupiny rýchlo rastúcich mikromycét tvoriacich konídie v reťazcoch na vlákne rod *Aspergillus*.

Dimorfné mikromycéty sú huby, ktoré sú schopné rásť v závislosti od teploty v dvoch odlišných morfologických formách, a to pri nižších teplotách vo forme mycélia, kedy tvoria hýfy a pri vyšších teplotách vo forme kvasiniek tvoriacich blastokonídie. Do tejto skupiny patria *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis* a *Histoplasma capsulatum*, ktoré môžu byť pôvodcami aj infekcií CNS.

Pneumocystis jiroveci je mikroorganizmus, ktorý bol pôvodne zaradený medzi parazity, ale na základe molekulárne genetickej analýzy bol preklasifikovaný medzi mikromycéty.

Candida spp.

Candida spp. patria medzi kvasinkové mikromycéty, ktoré sú kolonizátormi u ľudí aj zvierat. Z kandid je najčastejším komenzálom a zároveň aj pôvodcom infekcií u ľudí *C. albicans*. Primárnym miestom kolonizácie je GIT od ústnej dutiny až po rectum, ďalej vagina, urétra, koža. Jedná sa o oportúnne patogény, ktoré môžu spôsobiť oportúnnu mykózu - **kandidózu**. Kandidóza je spôsobená najčastejšie

oválnou kvasinkovitou bunkou *Candida albicans*, menej často *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* a inými. Ide o najčastejšie sa vyskytujúcu mykózu. Rizikom pre infekciu sú imunosupresia, používanie širokospektrálnych ATB, iatrogénne príčiny ako centrálny žilový katéter, drény, operačné rany a podobne. *Candida spp.* môžu postihnúť ktorýkoľvek orgán ľudského tela, v podobe endogénnej alebo exogénnej infekcie, ako aj nozokomiálnej infekcie, od kožných a slizničných kandidóz až systémové kandidózy s hematogénnou disemináciou, s postihnutím orgánov (pečene, sleziny, obličiek, srdca, pľúc, kostí a kĺbov), ako aj mozgu. Infekcia mozgu môže prebiehať ako meningitída, edém mozgu, mozgový absces resp. mikroabsesy, epidurálny absces alebo subdurálny empyém. Kandidóza CNS môže vzniknúť sekundárne pri hematogénnej diseminácii alebo na podklade neurochirurgického zákroku a ventrikuloperitoneálneho shuntu. Niekedy môže byť koincidencia kandidovej infekcie s bakteriálnou, často aj tuberkulóznou infekciou.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na priamom dôkaze a vyžaduje si správne odobratie klinického materiálu (pri CNS postihnutí likvor, krv na hemokultúru, hnis z abscesu) na mikroskopické, kultivačné vyšetrenie, PCR a detekciu antigénu. Pri mikroskopickom vyšetrení (svetelná mikroskopia, fluorescenčná mikroskopia) klinických vzoriek nachádzame prítomnosť oválnych kvasinkovitých pučiach buniek. *Candida spp.* (s výnimkou *C. glabrata*) produkujú pseudohýfy a hýfy, *Candida albicans* aj germinálne tubuly, chlamydospóry a blastokonídiá. Na kultiváciu sú určené štandardné mykologické média (napr. Sabouraudov agar), na ktorých väčšina kandid vytvára hladké, biele alebo krémové, konvexné kolónie. *C. albicans* na Sabouraudovom agare tvorí krémové kolónie s charakteristickou vôňou chleba. Ďalej je možné použiť aj chromogénne agary (CHROMagar), ktoré umožňujú orientačnú identifikáciu jednotlivých kandid. PCR sa používa pri systémových kandidózach na detekciu kandidovej DNA v krvi, je doplnkovou metódou k hemokultivácii. Na detekciu antigénu sa používa pre kandidy špecifický test na prítomnosť mannánu alebo aj panfungálny test na beta-D-glukán. Na odlíšenie *C. albicans* od iných druhov sa používa auxogram a zymogram. V histologických rezoch sa všetky kandidy zle farbja HE. Na histologické farbenie sa používajú PAS a GMS. Na identifikáciu jednotlivých

druhov kandid sa používajú chromogénne média, GT test (*C. albicans*), PNA-FISH a komerčne dostupné panely na asimuláciu cukrov.

V liečbe kandidózy CNS sa používa flukonazol alebo vorikonazol. V prípade nožnej rezistencie u *C. glabrata* alebo *C. krusei* sa podáva amfotericín B v lipidovej forme alebo echinokandíny. Ak je to možné, v prípade abscesu je indikovaná aj chirurgická liečba (drenáž abscesu, odstránenie abscesu).

Cryptococcus spp.

Cryptococcus spp. patria medzi kvasinkové mikromycéty, ktoré sa vyskytujú bežne v prírode – pôda, rozkladajúce sa drevo, vtáčí trus hlavne holubí. Z prostredia sa do organizmu dostanú najčastejšie inhaláciou cez respiračný systém, menej často GIT, zriedkavo cez kožu. Najčastejšími patogénnymi druhmi sú opuzdrené *C. neoformans* a *C. gattii*, ktoré sú pôvodcami kvasinkovej infekcie nazývanej **kryptokokóza**, ktorú môžu vyvolať aj u imunokompetentných jedincov. *C. neoformans* je považovaný za oportúnného patogéna u jedincov s poškodenou celulárnou imunitou (AIDS pacienti) ako najčastejší vyvolávateľ mykotických meningitíd. Kryptokokóza sa môže manifestovať ako pľúcna forma, no obvyčajne ako sekundárna CNS infekcia pri hematogénnom alebo lymfatickom šírení z pľúc. Menej často ako kožná, mukokutánná, kostná alebo viscerálna forma ochorenia. *C. gattii* sa vyskytuje prevažne v tropických a subtropických oblastiach s eukalyptovými stromami. *C. gattii* je pôvodcom podobných ochorení ako *C. neoformans*, ale u imunokompetentných jedincov, síce s nižšou mortalitou, ale vážnejšími neurologickými následkami spojenými s tvorbou granulómov v CNS. *C. neoformans* aj *C. gattii* sú vysoko neutrotrpní tzn. majú vysokú afinitu k nervovému systému s cerebromeningeálnym postihnutím.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika kryptokokózy je založená na mikroskopii a kultivácii krvi, likvoru alebo iného klinického materiálu. Na laboratórnu diagnostiku slúži mikroskopický dôkaz farbenie podľa Gramma a podľa Burriho (charakteristické okrúhle resp. oválne opuzdrené kvasinky) alebo iným farbením PAS a GMS; kultivačný dôkaz na bežných mykologických médiách (napr. Sabouraudov agar - mukózne kolónie s dôkazom ureázovej aktivity do 3 až 5 dní),

ako aj druhová identifikácia na základe asimilácie cukrov. Avšak najčastejšie sa diagnóza kryptokokovej meningitídy určuje priamym dôkazom kapsulárneho kryptokokového sacharidového antigénu v likvore, krvi alebo moči (pomocou komerčných kitov latexovej aglutinácie alebo enzýmovej imunoanalýzy). Tento dôkaz je rýchly s vysokou senzitívnu a špecifickou výpovednou hodnotou pre diagnostiku kryptokokózy vyvolanou oboma druhmi *C. neoformans* a *C. gattii*. Rovnako aj molekulárna diagnostika (napr. PCR) je vhodná na diagnózu kryptokokózy.

Neliečená kryptokoková meningitída je fatálna. Liečba je komplexná, zahŕňa promptnú antimykotickú terapiu, manažment intrakraniálneho tlaku a podporu imunity. V indukčnej liečbe sa podáva amfotericín B s flucytozínom (2 týždne) a následne flukonazol perorálne (ďalších 8 týždňov) prípadne itraconazol. AIDS pacienti si obyčajne vyžadujú celoživotnú udržiavaciu liečbu buď flukonazolom alebo itraconazolom. Ukončenie liečby môže byť spojené s relapsami ochorenia, preto aj u ostatných pacientov (bez AIDS) sa odporúča udržiavacia liečba azolom počas 1 roka. Liečba pacientov by mala byť sledovaná po klinickej aj mykologickej stránke. Mykologické sledovanie zahŕňa opakovanú lumbálnu punkciu, a to na konci 2 týždňa od indukčnej liečby s dosiahnutím sterilného likvoru; na konci udržiavacej liečby a kedykoľvek v prípade zmeny klinického stavu jedinca. Vzorky likvoru musia byť vždy aj kultivované. Stanovenie proteínov, glukózy, počtu buniek, titra kryptokokálneho antigénu v likvore môže poukázať na odpoveď organizmu na liečbu, nemá však výpovednú hodnotu do budúcnosti.

Aspergillus spp.

Vláknité huby – plesne rodu *Aspergillus* sú pôvodcami širokého spektra infekcií spadajúcich pod pojem **aspergilóza**. Aspergily sa bežne vyskytujú v prostredí, sú prítomné v pôde, vo vzduchu aj v nemocničnom prostredí. Tvoria septované hýfy, ktoré majú guľovité zakončenie, na ktorom sú retiazky infekčných konídií. *Aspergillus spp.* môžu byť príčinou alergických reakcií u hypersenzibilizovaných jedincov, aspergilómu, ako aj príčinou deštruktívnej, invazívnej až diseminujúcej pľúcnej infekcie aspergilózy, ktorá postihuje hlavne imunosupresívnych jedincov. Väčšina infekcií je spôsobená druhmi oportúnnymi patogénmi *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* a *A. terreus*. Hematogénna

diseminácia infekcie do extrapulmonálnych miest je bežná z dôvodu toho, že ide o angioinvazívnu hubu. Najčastejšie miesta postihnutia sú mozog (meningitída, encefalitída/encefalomyelitída, cerebrálny absces, epidurálny absces, subdurálny empyém), srdce, obličky, GIT, pečeň a slezina. Systémové diseminované ochorenie napriek špecifickej antimykotickej liečbe je vo väčšine prípadov fatálne.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika aspergilózy je založená na mikroskopickom vyšetrení klinického, ako aj vykultivovaného materiálu. Kultivačne ide o pleseň s rôznou farbou kolónií (čierne, hnedé, zelené, žlté, biele a iné) v závislosti od druhu a rastových podmienok. Kultivácia je nenáročná, aspergily rastú pomerne rýchlo t.j. 2-5 dní. Identifikácia je založená na mikroskopickom vyšetrení hýf (septované dichotomicky rozvetvené hýfy) a charakteristickým usporiadaním a morfológiou konídií (konidiofóry, vezikuly, phialidy). V mnohých prípadoch si identifikácia druhu vyžaduje použitie molekulárnych metód. Na rýchlu diagnostiku invazívnej aspergilózy slúži imunoanalytické stanovenie (ELISA) aspergilového galaktomanánového antigénu v sére (hemokultúra býva vo väčšine druhov negatívna), alebo použitie panfungálneho beta-D-glukánového testu. Oba tieto testy môžu mať určité obmedzenia v špecificite alebo senzitivite. Z tohto dôvodu sa v diagnostike invazívnej aspergilózy osvedčila PCR metóda, ktorá je vysoko senzitívna aj špecifická. Mikrobiologickú diagnostiku dopĺňa aj histopatologické vyšetrenie, kedy v histologickom tkanive sa hýfy farbja zle HE, naopak dobre sú viditeľné po farbení PAS a GMS.

V liečbe aspergilózy CNS sa používa vorikonazol resp. vorikonazol + echinokandín - anidulafungin alebo amfotericín B v lipidovej forme. Ak je to možné, odporúča sa aj chirurgické odstránenie postihnutého tkaniva.

Mukormycetes (Zygomycetes)

Mukormycéty sú vláknité angioinvazívne huby, ktoré sú pôvodcami oportúnnej mykózy - **mukormykózy (zygomykózy)**. Mukormycéty sa nachádzajú v pôde a odumierajúcej vegetácii. Do ľudského organizmu sa dostávajú inhaláciou, ingesciou alebo inokuláciou cez kožu a sliznice, môžu byť príčinou aj nozokomiálnej infekcie. Hlavnými humánnymi patogénmi kmeňa

Mukormycetes/Zygomycetes sú huby z radov Mucorales a Entomophthorales. Rad Entomophthorales obsahuje 2 patogénne rody - *Conidiobolus* a *Basidiobolus*, ktoré sú pôvodcami chronickej granulomatóznej infekcie podkožného tkaniva. Rad Mucorales zahŕňa patogénne rody ako *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* a iné, zodpovedné za niekoľko rôznych foriem mukormykózy s možným postihnutím aj CNS. Mukormykóza je zriedkavé ochorenie, avšak s akútnym a rýchlo progredujúcim priebehom, vo väčšine prípadov s fatálnym koncom. Invazívne formy mukormykózy sa vyskytujú u imunokompromitovaných jedincov. Rhinocerebrálna mukormykóza spôsobená predstaviteľmi radu Mucorales, je akútna, invazívna infekcia, ktorá postihuje nosovú dutinu, paranazálne dutiny, orbitu, so šírením sa do CNS (meningoencefalitída, encefalomyelitída, mozgový absces, epidurálny absces alebo subdurálny empyém). Riziková sú najčastejšie jedinci s metabolickou acidózou (diabetická ketoacidóza) a hematologickými malignitami. Angioinvazívny pôvod mukormykózy je často spojený s diseminovanou infekciou s postihnutím rôznych orgánov s neurologickou, pulmonálnou a GIT symptomatológiou. K ďalším formám mukormykózy patrí pulmonálna a kožná mukormykóza.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa využíva mikroskopický (KOH + kalkofluor biely; plesne so širokými, aseptovanými resp. riedko septovanými hýfami) a kultivačný dôkaz v biologickom materiáli (štandardné mykologické média s cykloheximidom; huby produkujúce šedé až hnedé kolónie vlneného vzhľadu). Výsledok sa dopĺňa aj histologickým dôkazom huby v klinickom materiáli, ktorý však nie je súčasťou mikrobiologickej diagnostiky (histopatologické rezy farbené HE alebo PAS; široké, nepravidelné rozvetvené hýfy).

V liečbe ostáva liekom amfotericín B v lipidovej forme, ak je možné aj s chirurgickým odstránením postihnutého tkaniva a podpory imunity. Vo všeobecnosti je väčšina *Mucormycetes* necitlivá na azoly a echinokandíny.

Coccidioides spp.

Dimorfné huby rodu *Coccidioides* - *Coccidioides immitis* a *Coccidioides posadasii* vyvolávajú **kokcidioidomykózu**, systémovú mykózu s endemickým výskytom

v Juhozápadnej časti USA, Mexiku, Centrálnej a Južnej Amerike. Ako primárne miesto postihnutia bývajú najčastejšie pľúca – pulmonálna forma po inhalácii konídií z pôdy kontaminovanej trusom netopierov a hlodavcov. U imunokompetentných jedincov prebieha obyčajne asymptomaticky. Naopak u imunokompromitovaných jedincov ide o pľúcne ochorenie a rôzne alergické reakcie (raš, erytém) ako odpoveď na tvorbu imunokomplexov, v prípade progresie aj s orgánovou disemináciou. Extrapulmonárna forma postihuje kožu, mäkké tkanivá, kĺby a kosti, ako aj CNS - mozog s obrazom meningitídy alebo vaskulitídy alebo tvorbou zápalových granulómov. Infekcia má obyčajne chronický priebeh, u neliečených pacientov fatálny.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika ochorenia je založená na mikroskopickom vyšetrení (prítomnosť sferúl s endospórmi) a kultivačnom vyšetrení, ktoré dopĺňajú aj sérologické vyšetrenia (+ histopatologické, ktoré nepatrí do mikrobiologickej diagnostiky). Z farbiacich metodík sa používa kalkoflór biely, HE, GMS alebo PAS. Kultivácia na bežných mykotických médiách pri teplote 25°C sa uskutočňuje pre vysokú možnosť infikovania sa len v špeciálnych bezpečnostných boxoch. Kolónie sú viditeľné do 3 až 5 dní. Potvrdenie diagnózy si vyžaduje aj detekciu exoantigénu (imunodifúzny test - ID test) alebo hybridizáciu nukleovej kyseliny. Zo sérologických vyšetrení sú to už spomínaný ID test, LA a KFR.

Meningeálna kokcidioidomykóza je liečená flukonazolom. Alternatívou je itrakonazol, posakonazol a vorikonazol. Intratekálna aplikácia amfotericínu B z dôvodu jeho toxicity je len v prípade zlyhania liečby azolovými preparátmi.

Paracoccidiodes brasiliensis

Paracoccidiodes brasiliensis je dimorfná huba, ktorá je pôvodcom systémovej endemickej mykózy nazývanej **parakokcidioidomykóza**. Infekcia je známa aj ako juhoamerická blastomykóza, s endemickým výskytom v krajinách Latinskej Ameriky. *P. brasiliensis* bol nájdený v pôde a do organizmu sa dostáva inhaláciou alebo traumatickou inokuláciou. Prirodzená infekcia bola dokumentovaná u pásavcov. U ľudí infekcia primárne postihuje pľúca s možnou progresiou

pľúcneho postihnutia u imunosuprimovaných jedincov, ako aj disemináciou do iných orgánov, vrátane CNS.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na mikroskopickom vyšetrení klinického materiálu s dôkazom charakteristických kvasinkových foriem okrúhleho alebo oválneho tvaru s pučiacimi výbežkami. Na farbenie preparátu sa môže použiť fluorescenčné farbenie kalkofluor biely, HE, GMS alebo PAS. Kultivácia sa uskutočňuje pre možnosť infikovania sa len v špeciálnych bezpečnostných boxoch. Kolónie sa objavujú po 3 až 4 týždňoch. Izolácia huby z kultúry vyžaduje demonštráciu termálneho dimorfizmu alebo detekciu exoantigénu. Stanovenie protilátok sérologickými testami ID alebo CF môže byť tiež nápomocné v diagnostike ochorenia ako aj v sledovaní odpovede organizmu na liečbu.

Vážne stavy vyžadujú podanie amfotericínu B v lipidovej forme s následnou liečbou itrakonazolom po dobu minimálne 6 mesiacov.

Blastomyces dermatitidis

Blastomyces dermatitidis je dimorfná huba s endemickým výskytom na juhovýchode a juhu Severnej Ameriky a v Afrike, ktorá je pôvodcom systémovej endemickej mykózy označovanej **blastomykóza**. Ochorenie primárne postihuje pľúca po inhalácii konídií z pôdy v miestach rozkladajúcej sa organickej hmoty – pulmonálna forma (asymptomaticky alebo symptomaticky – horúčka, kašeľ, respiračné zlyhanie; obraz tuberkulózy alebo obraz pľúcneho karcinómu) alebo v prípade extrapulmonálnej formy hematogénne diseminuje najčastejšie do kože (kožná forma – papulárne, pustulózne, ulcerózne, nodulárne, verukózne lézie, nebolestivé, lokalizované na tvári, hlave, krku a rukách) a kostí. Iné miesta diseminácie môžu byť urogenitálny trakt, pečeň, slezina a CNS. Postihnutie CNS u AIDS pacientov a inak imunokompromitovaných jedincov má veľmi zlú prognózu.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa používa mikroskopické a kultivačné vyšetrenie. Mikroskopický dôkaz využíva rôzne druhy farbení ako GMS, PAS, Giemsa, kalkofluor biely, ako aj fluorescenčnú mikroskopiu. Ako plesňová forma produkuje typické okrúhle až hruškovité konídiá; pre kvasinkovú formu sú

charakteristické okrúhle, mnohoadrové bunky, ktorých stena má dve kontúry. Kultivácia je pomalá (niekoľko týždňov) na selektívnych a neselektívnych mykotických médiách pri teplote 25° a 37°C v špeciálnych bezpečnostných boxoch. Potvrdenie prítomnosti huby si vyžaduje prítomnosť kvasinkovej formy, detekciu exoantigénu imunodifúznym testom alebo dôkaz nukleovej kyseliny hybridizáciou.

Liekom voľby v prípade životohrozujúceho meningeálneho postihnutia je amfotericín B v lipidovej forme. V liečbe sa podávajú aj azolové preparáty ako itrakonazol, flukonazol, posakonazol alebo vorikonazol.

Histoplasma capsulatum

Histoplasma capsulatum, pôvodca **histoplazmózy**, je dimorfná huba, ktorá sa vyskytuje sa v dvoch variantoch ako *H. capsulatum* var. *capsulatum*, pôvodca histoplasmosis capsulati s endemickým výskytom vo východnej časti USA, Mexiku, Centrálnej a Južnej Amerike a *H. capsulatum* var. *duboisii*, pôvodca histoplasmosis duboisii alebo inak označovanej Africkej histoplazmózy s endemickým výskytom v tropických oblastiach Afriky. Pri oboch variantoch histoplazmózy ide o inhaláciu mikrokonídií z pôdy kontaminovanej trusom vtákov a netopierov. U imunokompetentných jedincov môže ísť o asymptomatické ochorenie. U imunokompromitovaných jedincov ide o symptomatické ochorenie oboch variantov histoplazmózy, s disemináciou hlavne u pacientov s AIDS, pacientov s pľúcnym emfyzémom, starých ľudí ako aj malých detí. Vzácná chronická forma ochorenia pripomína TBC. **Histoplasmosis capsulati** sa prejavuje pľúcnym postihnutím (pulmonárna histoplazmóza) alebo diseminovanou histoplazmózou s disemináciou aj do CNS – do mozgu, kde spôsobuje meningitídu. **Histoplasmosis duboisii** sa naopak prejavuje regionálnou lymfadenopatiou s poškodením kože a kostí a rovnako možnou disemináciou. Diseminovaná histoplazmóza bez liečby končí fatálne.

V mikrobiologickej laboratórnej diagnostike sa používa mikroskopické, kultivačné vyšetrenie klinického materiálu (likvor, krv na hemokultúru), ako aj sérologický dôkaz protilátok a dôkaz polysacharidového antigénu v krvi alebo aj moči.

Kvasinková forma môže byť detekovaná v spúte, bronchoalveolárnej laváži, periférnej krvi, kostnej dreni a iných tkanivách farbených podľa Giemsa, GMS alebo PAS (kvasinky, lokalizované intracelulárne). Kultivácia je pomalá (niekoľko týždňov) v špeciálnych bezpečnostných boxoch. Potvrdenie prítomnosti huby si vyžaduje prítomnosť kvasinkovej formy, detekciu exoantigénu imunodifúznym testom alebo dôkaz nukleovej kyseliny hybridizáciou.

V liečbe histoplazmózy CNS je liekom voľby amfotericín B v lipidovej forme s následnou liečbou flukonazolom po dobu 9 až 12 mesiacov.

5 Parazitárne infekcie centrálneho nervového systému

Parazitárne infekcie zahŕňajú protozoárne infekcie (infekcie spôsobené prvokmi) a helmintové infekcie (infekcie spôsobené červami) spôsobené inváziou parazitov do ľudského organizmu; ako aj infekcie spôsobené parazitmi prenesenými do ľudského organizmu článkonožcami. Veľmi závažnou lokalizáciou parazitov ako jednobunkových prvokov, tak aj mnohobunkových helmintov je CNS. Množstvo parazitov, ktoré invaduje CNS síce nie je veľké, ale v prípade postihnutia CNS, môžu byť parazity príčinou neočakávanej rýchlej fatálnej infekcie.

Protozoárne infekcie spôsobujú protozoa (prvoky), jednobunkové živočíchy mikroskopických rozmerov, ktoré majú pravé jadro (eukaryotické bunky). Jediná bunka tvorí ich telo a vykonáva všetky potrebné životné funkcie. Mnohé sú voľne žijúce vo vode a v pôde. Veľký počet infekcií spôsobených týmito parazitmi sa vyskytuje najmä v tropických oblastiach, u niektorých je ale ich výskyt ubikvitárny. Medzi lekárske významné parazitujúce prvoky patria kmeň: *Sarcomastigophora* (meňavky/améby, bičíkovce/flagellata), *Apicomplexa* (sporozoa, spôrovce, kokcidie), *Ciliophora* (nálevníky). Podľa lokalizácie ich parazitizmu sa delia na črevné, dutinové, krvné a tkanivové protozoa. Z parazitických prvokov závažné infekcie CNS spôsobujú voľne žijúce meňavky – *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia diploidea*; z ďalších prvokov *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma brucei gambiense*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma cruzii*, *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*.

Helmintové infekcie spôsobujú helminty (červy), viacbunkové organizmy s vyvinutou tráviacou, nervovou, exkretorickou a reprodukčnou sústavou. Medzi lekárske významné patria nasledujúce podkmene a triedy t.j. podkmeň *Plathelminthes* (ploché červy), ktorý zahŕňa triedy Trematoda (motolice) a Cestoda (pásomnice) a podkmeň *Nemathelminthes* (oblé červy), kde patrí trieda Nematoda (oblé červy, hlístovce). Z parazitických helmintov spôsobujú infekcie CNS motolice *Schistosoma* spp., *Paragonimus westermani*; pásomnice *Taenia solium*, *Taenia multiceps*, *Echinococcus* spp.; hlístovce (okružlovce) *Trichinella spiralis*, *Toxocara* spp., *Angiostrongylus cantonensis*, *Baylisascaris procyonis* (tabuľka 8).

Tabuľka 8: Prehľad parazitárnych infekcií centrálneho nervového systému
(modifikované podľa Murray et al., 2016).

Infekcie centrálneho nervového systému	Patogény - parazity
Meningoencefalitída	<i>Naegleria fowleri</i> , <i>Trypanosoma brucei gambiense</i> , <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i> , <i>Toxoplasma gondii</i>
Granulomatózna encefalitída	<i>Acanthamoeba</i> sp., <i>Balamuthia mandrillaris</i>
Lézia mozgového tkaniva, Mozgový absces	<i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Taenia solium</i> , <i>Schistosoma japonicum</i> , <i>Acanthamoeba</i> spp., <i>Balamuthia mandrillaris</i>
Eozinofilná meningitída Cerebrálna malária	<i>Angiostrongylus cantonensis</i> , <i>Toxocara</i> spp., <i>Baylisascaris</i> (neural larva migrans), <i>Plasmodium falciparum</i>
Cerebrálna paragonimiáza (Cerebral paragonimiasis)	<i>Paragonimus westermani</i>

Čo sa týka klinického postihnutia CNS, protozoárne infekcie obyčajne spôsobujú difúzne poškodenie CNS (mozgu), zatiaľ čo pre helmintové infekcie je charakteristické skôr lokálne ložiskové postihnutie CNS.

Výskyt parazitárnych infekcií CNS je síce častejší v menej rozvinutých, sociálne slabších krajinách, tropického a subtropického pásma, no dnes už tieto infekcie nie sú výnimkou ani v rozvinutých krajinách. Ich šírenie do rozvinutých krajín súvisí s cestovaním, šírením infekcie HIV a iných ochorení spojených s imunosupresiou. Hoci sa v našich podmienkach stretávame s neuroparazitózami zriedka, netreba na ne zabúdať. Správna diagnostika je podmienkou úspešnej liečby a dobrej prognózy postihnutých jedincov.

5.1 Mikrobiologická diagnostika parazitárnych infekcií centrálneho nervového systému - všeobecne

Diagnostika parazitárnych infekcií môže byť niekedy dosť komplikovaná, a to z toho dôvodu, že klinické prejavy parazitárnej infekcie môžu byť nešpecifické resp. rozmanité pre danú konkrétnu parazitárnu infekciu.

Užitočným markerom parazitárnej infekcie v krvi je prítomnosť eozinofílie, ktorá je však charakteristická len v prípade helmintovej infekcie, v prípade ktorej môže byť dokonca aj v norme. Parazity vyvolávajú aj rôzne prejavy imunitnej reakcie; napríklad infekcia červami je charakterizovaná predovšetkým tvorbou IgE protilátok. V diagnostike má veľký význam aj anamnéza zameraná na cestovanie, požitie jedlo, transfúziu liečbu a socioekonomické podmienky pacienta. V diagnostike neuroparazitóz majú významné miesto aj zobrazovacie techniky (MR, CT).

Spôľahlivou a často jedinou cestou stanovenia správnej diagnózy sú metódy laboratórneho dôkazu, preto úspešná diagnostika parazitárnej infekcie zahŕňa podozrenie lekára na parazitárnu infekciu, správny odber vhodnej klinickej vzorky na laboratórne vyšetrenie, včasný transport odobratej vzorky do laboratória, vyšetrenie vzorky vhodnými laboratórnymi metódami pre parazitárnu infekciu s identifikáciou etiologického pôvodcu, komunikáciu klinického mikrobiológa s ošetroujúcim lekárom pacienta a správnu interpretáciu laboratórných výsledkov, z ktorej sa bude odvíjať liečba pacienta. U väčšiny parazitárnych infekcií správna interpretácia je založená na vedomostiach životného cyklu parazita ako aj na patogenéze infekcie u človeka.

5.1.1 Klinický materiál

Ako klinický materiál pri podozrení na parazitárnu infekciu CNS sa odoberá v prvom rade likvor a krv (tabuľka 9). Pri podozrení na maláriu sa odoberá kapilárna krv na prípravu krvných náterov.

Tabuľka 9: Laboratórna diagnostika parazitárnych infekcií centrálného nervového systému (modifikované podľa Murray et al., 2016).

Parazitárne infekcie centrálného nervového systému			
Parazity	Odobraté vzorky	Metódy odberu	Laboratórna diagnostika
<i>Acanthamoeba spp.</i> , <i>Naegleria spp.</i> , trypanozomózy, <i>Toxoplasma gondii</i>	Likvor	Sterilne	Mikroskopia (natívny preparát a fixovaný farbený preparát) Kultivácia
	Sérum	Venózna krv	Serológia (protilátky) PCR

5.1.2 Detekcia a identifikácia

Špecifická laboratórna diagnostika umožňuje priamy dôkaz t.j. dôkaz a lokalizáciu parazitov (ako aj ich častí – antigénov, nukleových kyselín) alebo ich vývinových štádií v tele človeka resp. vo vyšetrovanej klinickej vzorke alebo nepriamy dôkaz t.j. dôkaz špecifických protilátok v sére alebo v likvore ako odpoveď jedinca na parazitárnu infekciu.

Metódy priameho dôkazu predstavujú mikroskopické vyšetrenie (svetelná mikroskopia s technikami fázového kontrastu, tmavého poľa, fluorescenčné techniky, elektrónmikroskopické techniky a podobne), kultivačné vyšetrenie (voľne žijúce meňavky, larvy helmintov), metódy na dôkaz antigénov (imunofluorescenčné a imunoenzýmové techniky), molekulárno-biologické metódy dôkazu nukleovej kyseliny DNA alebo RNA parazita (PCR). Metódy detekcie parazitárnych antigénov a metódy detekcie nukleovej kyseliny parazita v klinickom materiáli pacienta majú široké uplatnenie v diagnostike parazitárnych infekcií. Poskytujú rýchlu, senzitívnu a špecifickú diagnostiku parazitárnych infekcií.

Metódy nepriameho dôkazu (metódy dôkazu protilátok) predstavujú metódy imunodiagnostické (EIA, IFA, aglutinačné, Western blot, KFR...).

5.1.2.1 Mikroskopia

Hoci základom mikrobiologickej diagnostiky vo väčšine prípadov je izolácia pôvodcu ochorenia v kultúre, mikrobiologická diagnostika parazitárnych infekcií je založená na morfológickom najčastejšie mikroskopickom dôkaze parazitov klinickom materiáli. Mikroskopické vyšetrenie krvných náterov v prípade infekcií CNS je priamou a užitočnou metódou detekcie plazmódií (pôvodcov malárie). Z dôvodu toho, že koncentrácia parazitov v krvi často kolíše, potrebný je opakovaný odber krvi t.j. počas niekoľkých dní. V prípade podozrenia na maláriu, sa odporúča opakovaný odber krvi a opakované vyšetrenie krvných preparátov po 6, 12 a 24 hodinách od odberu prvej vzorky krvi. Detekcia trypanozóm v krvi je občas možná počas včasnej akútnej fázy infekcie. Dôkaz *T. cruzi* pri Chagasovej chorobe môže byť tiež možný v priebehu ďalšej nasledujúcej febrilnej periódy. V prípade *T. brucei rhododesiense* a *T. brucei gambiense* ako pôvodcov Africkej trypanozomózy je po niekoľkých mesiacoch detekcia trypanozóm skôr možná v likvore ako v krvi.

Mikroskopický dôkaz parazita v krvi si vyžaduje prípravu natívneho preparátu (trypanozómy) a fixovaného farbeného tenkého a hrubého krvného preparátu. Natívny preparát krvi sa používa na dôkaz pohybu parazita (trypanozóm). Fixovaný farbený preparát krvi slúži predovšetkým na dôkaz a identifikáciu parazita v krvi. V tenkom krvnom preparáte (identifikácia druhu + určenie jeho kvantity) je krv roztrhnutá na podložnom sklíčku v jednej tenkej vrstve buniek, pričom erytrocyty zostávajú intaktné po fixácii a farbení. V hrubom krvnom preparáte (orientačné vyšetrenie) sú erytrocyty lyzované pred farbením a v preparáte sú viditeľné leukocyty, trombocyty a parazity. Na farbenie fixovaných preparátov pri podozrení na parazitárnu infekciu používame farbenie podľa Giemsa (užitočné najmä pri farbení prvokov – plazmódií a trypanozóm), farbenie Kato alebo trichrómom.

Okrem mikroskopického vyšetrenia krvi, v prípade infekcií CNS vyšetrujeme mikroskopicky aj likvor. Mikroskopické vyšetrenie likvoru umožňuje detekovať v CNS trofozoity *Naegleria fowleri*, trypanozómy a larvy nematoda *Angiostrongylus cantonensis*. V prípade bioptickej vzorky je možné pripraviť aj tenké tkanivové preparáty farbené podľa Giemsa používané na detekciu intracelulárnych parazitov (*Toxoplasma gondii*).

5.1.2.2 Kultivácia

Na rozdiel od väčšiny infekčných ochorení, kultivácia v parazitologickej diagnostike nie je štandardne používanou diagnostickou metódou. Kultivácia väčšiny parazitov je buď neúspešná alebo príliš náročná. Existujú však určité protozoa, ktoré môžu byť relatívne ľahko kultivovateľné. V prípade pôvodcov parazitárnych infekcií CNS ide o *E. histolytica*, *Acanthamoeba* spp., *N. fowleri*, *P. falciparum*, *T. cruzi*, *T. gondii*, a to buď *in vitro* v šikmých agaroch alebo *in vivo* na zvieratách.

5.1.2.3 Dôkaz antigénov

Dôkaz špecifických antigénov parazita v krvi (ako napr. v prípade *Plasmodium* spp.), mozgovomiešnom moku alebo tekutom materiáli získanom z abscesu alebo cysty umožňuje definitívne diagnostikovať druh parazita. Testy na dôkaz špecifických antigénov parazitov (*Entamoeba*, niektoré tkanivové formy helmintóz) predstavujú predovšetkým EIA, ďalej imunofluorescencia (IF), radioimunoanalýza (RIA), imunochromatografické a imunoblotové metódy. Výhodou je možnosť vyšetrenia priamo z materiálu, s možnosťou dokázať aj množstvo parazita. Nevýhodou je možnosť dôkazu len konkrétneho parazita, na ktorého je podozrenie.

5.1.2.4 Dôkaz nukleových kyselín

Diagnostiku parazitárnych infekcií výrazne zlepšili molekulárno-diagnostické metódy založené na hybridizácii, amplifikácii a sekvenovaní nukleových kyselín (napr. PCR, FISH, génové sondy). Princípom týchto metód je skutočnosť, že všetky organizmy obsahujú svoju špecifickú sekvenciu nukleových kyselín, čo sa využíva v hybridizačnom teste na ich odlíšenie v rámci rodov, druhov a kmeňov. Výhodou týchto metód je aj to, že sú nezávislé od imunologického statusu jedinca alebo od jeho predchádzajúcej infekčnej anamnézy, tzn. že identifikujú aktívnu infekciu. Majú aj vynikajúcu senzitivitu, ktorá umožňuje detekovať prítomnosť hoci aj len jedného parazita v biologickej vzorke. Okrem toho, že dokážu detekovať a identifikovať parazity v rôznych klinických vzorkách pacienta, dokážu detekovať a identifikovať parazity aj v ich prirodzenom vektore. Tieto metódy umožňujú detekovať a identifikovať rôzne parazity, ktoré v rámci parazitárnych infekcií CNS predstavujú *Plasmodium spp.*, *Trypanosoma cruzi.*, *E. histolytica*, *Toxoplasma gondii*.

5.1.2.5 Dôkaz protilátok

Ak nie je možný priamy dôkaz parazita, používame tzv. nepriame metódy. Metódy nepriameho dôkazu predstavujú v rámci parazitárnych infekcií CNS dôkaz špecifických protilátok (IgG, IgM, IgA a IgE) v sére a v mozgovomiešnom moku rôznymi metódami (ELISA, IF, aglutinačné metódy, Western blot, KFR a podobne). Detekcia špecifických protilátok je používaná a indikovaná v diagnostike mnohých protozoárnych infekcií CNS (extraintestinálna amebióza, Juhoamerická trypanozomóza, malária získaná transfúziou, toxoplazmóza) a helmintových infekcií CNS (cysticerkóza, hydatidóza, schistozomóza, trichinelóza, toxocaróza).

5.2 Pôvodcovia parazitárnych - protozoárnych infekcií centrálného nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika

5.2.1 Améby – meňavky (*Amoeba*)

Naegleria fowleri, *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia diploidea* sú označované ako amfizoické améby pre ich schopnosť žiť dvojakým životom t.j. ako voľne žijúce organizmy prítomné vo vlhkej pôde, stojatej vode, bazénoch, vo vzduchu, rozšírené na celom svete, a aj ako patogénne endoparazity človeka spôsobujúce závažné a často devastujúce infekcie, najmä v tkanive CNS. Aj keď sú tieto infekcie v porovnaní s inými infekciami menej časté, sú o to významnejšie pre ich extrémnu virulenciu a veľmi vysokú úmrtnosť.

Naegleria fowleri

N. fowleri (označovaná aj ako mozog požierajúca améba) je pôvodcom ťažkej infekcie CNS označovanej ako **primárna amébová meningoencefalitída** (PAME) alebo **neglerióza**. Améba sa vyskytuje na celom svete, a to v teplých vodách (jazerá, rieky a horúce pramene) a v pôde. Vstupnou bránou infekcie pri kúpaní a ponáraní sa je sliznica nosovej dutiny, odkiaľ preniká pozdĺž čuchového nervu až do mozgu. PAME prebieha ako akútna purulentná meningoencefalitída s fulminantným priebehom a obvyčajne fatálnym koncom. Rýchly nástup príznakov, prudký priebeh a neskoré stanovenie diagnózy predurčuje zlú prognózu. Infekcia postihuje aj imunokompetentných pacientov. Klinicky sa manifestuje bolesťami hlavy, horúčkou, stuhnutosťou šije, nauzeou, vracaním, podráždenosťou, nervozitou, fotofóbiou, letargiou, epilepsiou, diplopiou, poruchami správania až kómou. Postihnuté sú frontálne laloky mozgu, báza mozgu, mozgový kmeň a mozoček. Prítomný je edém mozgu, s obsahom trofozoitov améb, leukocytov, eozinofilov, makrofágov a lymfocytov v exsudáte. V kortexe bývajú hemoragické lézie. V edematóznom a nekrotickom mozgovom tkanive sú prítomné trofozoity améb. Améby sú prítomné v masívnom množstve v perivaskulárnych priestoroch. Mozgovomiešny mok je purulentný, s nízkou až normálnou hladinou glukózy, vysokou koncentráciou proteínov, pleocytózou s prevahou polymorfonukleárných leukocytov. Intrakraniálny tlak je zvýšený.

V diagnostike okrem anamnézy (plávania), klinickej symptomatológie a zobrazovacích techník (CT, MR) má svoje nezastupiteľné miesto mikrobiologická laboratórna diagnostika. Likvor je purulentný, ale sterilný t.j. bez prítomnosti baktérií. Etiológiu potvrdí priamy dôkaz trofozoitov pri mikroskopickom vyšetrení čerstvo odobratého, nechladeného likvoru. Dôležité je odlíšiť trofozoity od leukocytov napr. farbením náterov likvoru trichrómom alebo Giemsovým farbivom, ktoré zvýraznia jadro meňaviek. Špecifikácia trofozoitov do rodu *Naegleria* je možná tzv. flagelárnym testom, kedy po suspendovaní trofozoitov do destilovanej vody sa do hodiny transformujú na bičíkaté štádiá. Kultivačný dôkaz améb zo vzorky mozgovomiešneho moku alebo biopsie mozgového tkaniva je štandardnou diagnostickou metódou. Po kultivácii pri 37°C na 1 % nevýživnom agare (NN agare), na povrchu ktorého je natretá tepelne usmrtená kultúra Gram-negatívnych baktérií *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* alebo inej Gram-negatívnej baktérie sú do niekoľko hodín pozorovateľné trofozoity.

V diagnostike je možné použiť aj PCR, ktorá veľmi rýchlo deteguje DNA améb.

Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia diploidea

Acanthamoeba spp. (všadeprítomné; v pôde, prachu, vzduchu, sladkých aj slaných vodách), *Balamuthia mandrillaris* (prítomná v pôde) a *Sappinia diploidea* (prítomná v pôde a vodnom prostredí) spôsobujú závažné infekcie kože, dýchacích ciest a pľúc (plus akantaméby spôsobujú aj vážne chronické ochorenie oka, rohovky – keratitídu). Z kože, dýchacích ciest, pozdĺž čuchového nervu, ako aj krvnou cestou sa môžu rozšíriť do mozgu a spôsobiť subakútnu až fatálnu **granulomatóznú amébovú encefalitídu** (GAE) alebo vzacnu ložiskovú infekciu – **mozgový absces**. GAE postihuje obvyčajne imunokompromitovaných jedincov. Ochorenie má dlhý inkubačný čas (niekoľko týždňov až mesiacov). Klinicky sa prejavuje bolesťami hlavy, horúčkou, stuhnutosťou šije, nauzeou, vracaním, poruchami správania a videnia, epileptickými záchvatmi až kómou. Býva zvýšený intrakraniálny tlak. Likvor býva purulentný, s pleocytózou lymfocytov, polymorfo nukleárných leukocytov, zvýšenou koncentráciou proteínov, ale bez prítomnosti akantaméb. V mozgu sa vytvárajú ložiskové lézie – granulómy, ktoré obsahujú trofozoity a cysty.

V diagnostike okrem anamnézy, klinickej symptomatológie a zobrazovacích techník (CT, MR) má svoje nezastupiteľné miesto laboratórna diagnostika. Likvor je purulentný, s absenciou vírusových a bakteriálnych patogénov. Kultivačný dôkaz améb zo vzorky mozgovomiešneho moku alebo biopsie mozgového tkaniva je štandardnou diagnostickou metódou. Po kultivácii pri 37°C na 1 % nevýživnom agare (NN agar – Non Nutrient agar), na povrchu ktorého je natretá tepelne usmrtená kultúra Gram-negatívnych baktérií *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* alebo inej Gram-negatívnej baktérie sú do niekoľko hodín pozorovateľné meňavky. Histologické vyšetrenie je tiež vhodnou metódou. Meňavky s výrazným centrálnym jadierkom sú viditeľné v perivaskulárnych priestoroch. Je možné použiť aj priamy dôkaz DNA parazita pomocou PCR.

Liekom voľby je včasné podanie amfotericínu B intravenózne a intratekálne.

Prevenciou je pravidelné a správne čistenie stien a dna bazénov a filtrov v recirkulačnom systéme (bežne používané dezinfekčné prostriedky cysty améb neusmrccujú). Neodporúča sa kúpanie v trvale oteplenej vode.

Entamoeba histolytica

E. histolytica spôsobuje amebózu (amébovú úplavicu), čo je črevné ochorenie. *E. histolytica* sa môže z čreva dostať hematogénnou cestou do rôznych orgánov (pečene, pľúc), vrátane mozgu, kde vytvára abscesy a spôsobuje extraintestinálnu amebózu. Postihnutie mozgu je zriedkavé, avšak infekcia má rýchly fulminantný priebeh. Klinicky sa môže prejaviť poruchami správania a mentálneho stavu.

Mikrobiologická diagnostika extraintestinálnej formy je založená na nepriamom dôkaze – sérologii (dôkasz protilátok metódou ELISA).

V liečbe sa používa metronidazol, avšak abscesy si vyžadujú chirurgickú liečbu.

5.2.2 Bičíkovce (Flagellata)

***Trypanosoma* spp.**

Trypanosoma spp. sú pôvodcami ochorenia označovaného **trypanosomiáza (trypanozomóza)**, ktorá patrí medzi tropické krvné a tkanivové protozoálne infekcie. V Európe sa nevyskytuje, resp. ojedinele ako importovaná infekcia. Pozlišujeme africkú (západoafrickú a východoafrickú) a americkú trypanozomózu.

Africká trypanosomiáza (spavá choroba) je zoonóza, spôsobená prvokmi - bičíkovcami (flagellata) *Trypanosoma brucei gambiense* (západoafrická – gambijská spavá choroba) a *Trypanosoma brucei rhodesiense* (východoafrická rodézska spavá choroba). Vektorom prenosu *T. gambiense* je mucha *Glossina palpalis* (Tse-tse) a vektorom *T. rhodesiense* je *Glossina morsitans*. Rezervoárom je infikovaný človek. Po počiatočných nešpecifických príznakoch sa vyvíja meningoencefalitída (meningoencephalitis lethargica), ktorej priebeh môže byť buď akútne, rýchly, často letálny – rodézska forma alebo chronický – gambijská forma. Východoafrický (rodézsky) typ spavej choroby má krátky inkubačný čas a veľmi rýchly priebeh s intenzívnymi horúčkami, triaškou a poškodením CNS. Neliečený pacient obyčajne zomiera do 3 – 9 mesiacoch na poruchu činnosti srdca skôr, ako sa objavia príznaky poškodenia CNS (meningoencefalické štádium ochorenia po 4 – 8 mesiacoch). Západoafrický (gambijský) typ spavej choroby má chronický priebeh. Po infekčnom vpichu muchou tse-tse sa cca o necelý týždeň vytvorí mäkký erytematózny uzlík „chancr“, z ktorého vznikne vred, ktorý sa časom zahojí. Pacient má horúčku, nočné potenie, slabosť, obojstrannú lymfadenopatiu na zadnej strane krku tzv. Winterbottomov syndróm. Po mesiacoch (cca po 1 – 2 rokoch meningoencefalické štádium ochorenia) sa objavuje letargia, apatia, niekedy naopak podráždenosť, pretrvávajúce bolesti hlavy, manifestujú sa príznaky postihnutia CNS (tras jazyka, ataxia, hyperkinéza, krče), poruchy spánku (pacient má narušený spánkový rytmus t.j. spí cez deň) a vedomia až komatózny stav. Napriek liečbe časť infikovaných trpí na rozličné encefalopatie a 10% z nich zomiera.

Americká trypanosomiáza (Chagasova choroba), ktorej vyvolávateľom je prvok/bičíkovec *Trypanosoma cruzii*, ktorý okrem srdcového svalu a hladkého

svalstva vnútorných orgánov môže postihnúť aj CNS, a spôsobiť vznik nodulárnych ložísk zapríčiňujúcich meningoencefalitídu. Vtedy možno dokázať trypanozómy v likvore. Vektorom tohto parazita sú rôzne druhy ploštíc rodu *Triatoma* a *Rhodnius*. Domáce aj divé zvieratá sú jeho rezervoárovými hostiteľmi. *T. cruzi* spôsobuje akútnu a chronickú formu Chagasovej choroby. Akútne štádium (u detí) je charakterizované reakciou v mieste vpichu tzv. chagómom (trypanozomový „chancr“) – červené, teplé, nebolestivé miesto, ktoré sa objaví niekoľko hodín po poštípaní plošticou a môže pretrvávať mesiace. Ak je chagóm vytvorený na spodnom viečku, hovoríme o Romaňovom symptóme. Objavujú sa horúčky, triaška, bolesti v kĺboch, svaloch, poruchy srdca a meningoencefalitída. Chronické štádium sa vyskytuje u dospelých, chýba chagóm, pacient má subfebrílie, môže trpieť kardiálnymi, žalúdočnými a neurologickými ťažkosťami.

Definitívna diagnóza spočíva v dôkaze trypanozóm vo farbených preparátoch v periférnej krvi, likvore alebo bioptických vzorkách (lymfatické uzliny). V likvore nachádzame zvýšené množstvo proteínov, leukocyty a trypanozómy. Diagnóza Chagasovej choroby sa robí na základe klinických prejavov a nálezů trypanozóm v zoškraboch z chagómu a v krvi (len v akútnom štádiu).

V diagnostike sa využívajú sa aj metódy nepriameho dôkazu, najčastejšie dôkaz protilátok metódou ELISA.

Pri postihnutí CNS v prípade spavej choroby je liekom voľby arzénový preparát - melarsoprol, ktorý prechádza cez hematoencefalickú bariéru (HE).

Pri Chagasovej chorobe je liekom voľby nifurtimox, ktorý prechádza cez HE bariéru a je účinný v akútnej fáze ochorenia.

5.2.3 Kokcidie (Coccidia)

Toxoplasma gondii

T. gondii je pôvodcom ochorenia **toxoplazmózy**, ktorá patrí medzi protozoózy s výskytom aj v Európe. Definitívnym hostiteľom je nakazená mačka (alebo iné mačkovité šelmy), ktorá vylučuje oocysty vo výkaloch. Človek ako medzihostiteľ sa nakazí fekálno-orálnou cestou požitím oocýst, ktoré kontaminovali zeleninu,

ovocie, ruky pri práci v záhrade, alebo pri hre detí na pieskoviskách alebo často aj z nedostatočne tepelne upraveného resp. surového mäsa, ktoré obsahuje toxoplazmové cysty. Podobne ako človek sa nakazia teplokrvné zvieratá a vtáci (medzihostitelia). V tráviacom trakte sa z oocýst uvoľňujú sporozoity, ktoré sú krvou zanášané do rôznych orgánov a tkanív. Pri latentnej infekcii sa v tkanivách najčastejšie v mozgu, sietnici, priečne pruhovanom svalstve tvoria toxoplazmové cysty. Klinicky sa ochorenie prejavuje ako kongenitálna alebo získaná toxoplazmóza. Kongenitálna toxoplazmóza vzniká prechodom parazita cez placentu z infikovanej matky na plod, najčastejšie po primárnej nákaze v tehotenstve. Takáto infekcia môže prebiehať buď akútne odumretím plodu a potratom, alebo sa infekcia prejaví po narodení dieťaťa ako viscerálna (vzácná), cerebrálna (meningoencefalitída, encefalomyelitída, mikrocefalia) alebo očná forma (chorioretinitída). Získaná toxoplazmóza môže byť očná, lymfadenopatická (lymfoglandulárna) a **neurotoxoplazmóza**. U imunokomprimovaných jedincov, ako sú pacienti s AIDS je neurotoxoplazmóza najčastejšou oportúnnou infekciou. U týchto jedincov dochádza k aktívnej proliferácii parazita s lokálnymi nekrózami a disemináciou do CNS. Klinicky ide najčastejšie o meningoencefalitídu, s difúznou encefalopatiou, zmätenosťou, zmenami v mentálnom statuse, záchvatmi, horúčkou, bolesťami hlavy. U cca 20% HIV pozitívnych pacientov sa vyvíja toxoplazmová encefalitída s multifokálnymi abscesmi s predilekciou v bazálnych gangliách. Solitárne lézie boli prítomné cca u tretiny postihnutých. U imunokompetentných jedincov prebieha toxoplazmóza väčšinou asymptomaticky.

Laboratórna mikrobiologická diagnostika toxoplazmózy sa opiera predovšetkým o dôkaz celkových a špecifických protilátok (IgM, IgA, IgG) v sére a v likvore (nepriame metódy – sérologické – KFR, nepriama imunofluorescencia, ELISA, RIA, imunoblot a iné). Na posúdenie aktivity neuroinfekcie je potrebné rozlíšiť, či ide o protilátky z plazmy alebo ide o syntézu protilátok spôsobenú poruchou hematoencefalickej bariéry. Na určenie pôvodu protilátok je potrebné stanoviť protilátkový index. Metóda je založená na porovnaní koncentrácií špecifických a celkových IgG protilátok v likvore (resp. v očnom komorovom moku) a v sére. Mikroskopický dôkaz je možný iba pri histopatologickom spracovaní excidovaného tkaniva. Významnou metódou priameho dôkazu sú metóda PCR t.j.

vyšetrenie DNA parazita v likvore. Na MR bývajú prítomné toxoplazmové lézie lokalizované subkortikálne.

V liečbe symptomatickej toxoplazmózy sa používajú rôzne antimikrobiálne látky, ktoré je možné kombinovať. Ide o antimalarikum - pyrimethamín (najúčinnjší), chemoterapeutikum – sulfadiazín a makrolid – spiramycín, klindamycín a kotrimoxazol.

Plasmodium falciparum

Plasmodium spp. sú pôvodcovia **malárie**, ktorá je považovaná za najzávažnejšiu parazitickú chorobu na svete s odhadom cca 300 až 500 miliónov nových prípadov ročne a cca 2,7 miliónov úmrtí ročne. Väčšina t.j. až 90% úmrtí je v subsaharskej Afrike a zvyšok v Indii, juhovýchodnej Ázii a Oceánii a Amerike. V Európe sa vyskytuje ako importovaná infekcia.

Malária patrí medzi tropické krvné protozoálne infekcie pôvodcom ktorých môžu byť rôzne druhy malarických plazmódií. Plazmódiá majú dva nezávislé životné cykly – jeden u človeka a druhý u komára. Vektorom prenosu infekcie z človeka na človeka sú samičky komárov rodu *Anopheles*, v ktorých prebieha pohlavné (sexuálne) rozmnožovanie plazmódií tzv. sporogónia (vznik sporozoitov). Samička komára sa infikuje pri cicaní krvi infikovaného človeka, ktorá obsahuje samčie a samičie gametocyty. V zažívacom trakte samičky sa gametocyty spoja, vznikne zygota až oocysta, ktorá sa rozpadá na množstvo sporozoitov (vlastná infekčná forma parazita), ktoré migrujú do slinných žliaz komára. Po uštipnutí človeka takto infikovaným komárom sa sporozoity dostávajú do krvi človeka a krvou do pečene. V bunkách pečene človeka prebieha nepohlavné (asexuálne) rozmnožovanie tzv. schizogónia (vznik mnohoadrových pečenejších schizontov) – preerytrocytárne/extraerytrocytárne pečenejšie štádium. Toto štádium je ukončené rozpadom schizontov za vzniku niekoľko tisíc malých merozoitov, ktoré sú rozrušením pečenejšej bunky vyplavené do krvi. Merozoity v krvi ihneď napádajú erytrocyty a podobne ako v pečeni vznikajú v erytrocytoch mnohoadrové erytrocytárne schizonty (erytrocytárne štádium), ktorých rozpadom vznikajú tisíce malých merozoitov. Merozoity rotrhnú erytrocyt a spolu s pyrogémni sú vyplavené

do krvi. Vyplavené merozoity napádajú ďalšie erytrocyty a cykly so záchvatmi horúčky sa opakujú. Niektoré merozoity sa v erytrocytoch diferencujú za vzniku samčích a samičích gametocytov, ktoré pretrvávajú v erytrocytoch niekoľko dní. Ak nie sú nasaté komárom, zanikajú. Ak sú nasaté komárom, dostanú sa do jeho zažívacieho traktu, kde iniciujú sexuálny cyklus. V Európe sa vyskytuje ako importovaná infekcia.

Z vyvolávateľov malárie, ktorý môže postihnúť CNS je predovšetkým druh *Plasmodium falciparum*. Spôsobuje ťažkú maláriu označovanú ako **malária tropika**, ktorá má často fulminantný priebeh končiaci u neliečených a neimúnnych jedincov fatálne. Klasický malarický záchvat má tri fázy: zimnica, horúčka, potenie; v prípade tropickej malárie trvá horúčka takmer nepretržite t.j. 20 – 24 hodín a je sprevádzaná delíriom. Táto malária je zodpovedná až za cca 90 % všetkých úmrtí na maláriu. *P. falciparum* v priebehu niekoľkých dní infikuje všetky vývojové štádiá erytrocytov. Táto ťažká malária, ak sa nieleči, manifestuje sa ako **cerebrálna malária**, renálne zlyhávanie alebo ťažká anémia. Jedinec je v ohrození života, preto je veľmi dôležité stanoviť, čo najrýchlejšie diagnózu a nasadiť liečbu. Cerebrálna (mozgová) malária vzniká asi u 2% prípadov (najmä u detí a tehotných žien) a manifestuje sa ako encefalopatia alebo komatózny stav, s mortalitou 15 – 25% aj napriek adekvátnej liečbe. Klinický obraz môže zahŕňať krče, horúčku, tras, abnormálne flexie svalov, dezorientáciu až kómu.

Zlatým štandardom diagnostiky je stále priamy mikroskopický dôkaz pôvodcov ochorenia v hrubej kvapke krvi a v krvnom nátere po zafarbení podľa Giemsa a Romanowski. Vzorky krvi odoberáme obvyčajne v priebehu záchvatu. Na úspešnú diagnostiku je potrebné prezrieť aj niekoľko desiatok preparátov odobratej krvi. K dispozícii sú aj iné priame metódy na dôkaz antigénu a DNA parazita (PCR). MR môže odhaliť určité zmeny v mozgu (edém mozgu, kortikálne infarkty, ischémia malých ciev, petechiálne krvácanie, malarické granulómy v mozgu).

V liečbe malárie *P. falciparum* sa používajú antimalariká účinné proti krvným schizontom a antimalariká účinné proti gametocytom. Antimalariká účinné proti hypnozoitom sa v liečbe tejto malárie nepoužívajú, a to z toho dôvodu, že *P. falciparum* netvorí latentnú pečeňovú formu parazita tzv. hypnozoity. Liečba

malárie *P. falciparum* predstavuje liečbu klinickú (eliminácia akútnych záchvatov malárie - supresívna liečba - supresívne/schizontocídne látky), ako aj liečbu radikálnu (možná eradikácia *P. falciparum* účinnými liekmi, pretože nevytvára latentné formy tzv. hypnozoity v pečeni). Komplikované malígne formy sa liečia chinínom v kombinácii s klindamycínom.

5.3 Pôvodcovia parazitárnych - helmintových infekcií centrálneho nervového systému a ich mikrobiologická diagnostika

5.3.1 Motolice (Trematoda)

Schistosoma spp.

Z hľadiska humánnej morbidity a mortality sú z motolíc najdôležitejšie krvné motolice - schistozómy. Spôsobujú vážnu infekciu **schistozomózu** (bilharziózu, schistosomózu, schistosomiázu), ktorej pôvodcami sú tri hlavné druhy schistozóm (*S. mansoni*, *S. haematobium* a *S. japonicum*), ktoré infikujú človeka. Vyskytujú sa v subtropických a tropických oblastiach (v Afrike, Ázii a Amerike). Schistozómy sú medzi motolicami výnimkou, lebo sú oddeleného pohlavia a nemajú druhého medzihostiteľa. Prvým štádiom sú vajíčka, ktoré sa z definitívneho hostiteľa – človeka vylučujú do vonkajšieho prostredia v závislosti od druhu schistozóm stolicou (*S. mansoni* a *S. japonicum*) alebo močom (*S. haematobium*). Z vajíčok sa za vhodných podmienok uvoľnia miracídie (1. larválne štádium), ktoré v sladkovodnom prostredí penetrujú do medzihostiteľa – vodného slimáka, v ktorom dozrievajú na cercárie (asexuálne rozmnožovanie; 2. larválne štádium) a opúšťajú slimáka. K infekcii človeka dochádza v sladkovodnom prostredí, prienikom larií – cercárií cez kožu človeka do krvného obehu. Krvným obehom migrujú po celom tele a vyvíjajú sa v dospelé červy samčieho a samičieho pohlavia. Lokalizácia dospelých červov je špecificky viazaná na orgány človeka podľa jednotlivých druhov schistozóm tzn. v cievach črevného systému alebo v cievach urogenitálneho systému, kde sa sexuálne rozmnožujú. Samička môže produkovať až 3000 vajíčok každý deň a žiť 20-30 rokov. Vajíčka sú schopné prenikať stenou ciev do lúmenu čreva alebo do močového mechúra. Vajíčka sa

vylučujú stolicou alebo močom do vonkajšieho prostredia a cyklus sa opakuje. Niektoré vajíčka zostávajú v tele človeka. Symptómy schistozomózy sú výsledkom reakcie ľudského organizmu na prítomnosť vajíčok, nie na prítomnosť dospelého červa. Mnoho infekcií môže prebiehať asymptomaticky alebo môže dôjsť k akútnej infekcii po penetrácii cercárií cez kožu (erytém, eozinofília, horúčky a podobne) alebo môžu spôsobiť ťažké chronické poškodenie rôznych orgánov závislosti od druhu (napr. pečene, pľúc, sleziny, čreva, močového systému alebo aj CNS). Ako príležitostná, ale závažná komplikácia sa môže vyskytnúť aj postihnutie CNS t.j. prítomnosť granulomatóznych lézií v CNS spôsobené prítomnosťou vajíčok v mozgu (**cerebrálna schistozomóza**) alebo aj v mieche, kedy sú vajíčka krvným obehom zanesené do mozgu alebo miechy a infekcia často končí fatálne.

Väčšina prípadov cerebrálnej schistozomózy je spôsobená *S. japonicum*, zatiaľ čo v mieche parazitujú *S. mansoni* a *S. hematobium*. Klinickými prejavmi cerebrálnej schistozomózy bývajú bolesti hlavy, zvracanie, poruchy videnia, kŕče, epileptické záchvaty. Pri postihnutí miechy ide o akútnu alebo subakútnu myelitídu s bolesťami chrbta, retenciou moču, motorickými a senzorickými poruchami. Ďalšie myelopatické prejavy sú spojené s kompresiou miechy v dôsledku fokálnych granulómov alebo syndrómu prednej spinálnej artérie.

V laboratórnej diagnostike infekcie ide o použitie metód nepriameho dôkazu t.j. dôkaz protilátok ELISA metódou, nepriamou hemaglutináciou a KFR. V diagnostike infekcie sa využívajú aj zobrazovacie techniky, hlavne MR.

Antimikrobiálna liečba schistozomózy je zameraná proti produkovaniu vajíčok.

Liekom voľby je antihelmintikum prazikvantel, ktorý ako antitrepatodikum pôsobí proti všetkým druhom schistozóm. Je najlepším širokospektrálnym a dobre tolerovateľným antihelmintikom a liekom voľby aj v liečbe schistozomózy. Je účinný proti všetkým trom druhom schistozóm.

Prevencia a kontrola je založená na preventívnej liečbe rizikových skupín v endemických oblastiach, kontrole slimákov, zlepšení hygieny a zdravotnej hygieny. Po malárii je druhou najčastejšou parazitózou s vysokou morbiditou aj mortalitou.

Paragonimus westermani

Rôzne druhy motolíc *Paragonimus spp.*, ale najčastejšie motolica *Paragonimus westermani* (orientálna pľúcna motolica) s výskytom v juhovýchodnej Ázii, Japonsku, Afrike je vyvolávateľom **paragonimózy**, závažného pľúcneho ochorenia človeka a zvierat (potkany, ošípané). Táto motolica na svoj vývoj potrebuje dvoch medzihostiteľov. Infekcia u človeka vzniká požitím metacerkárií, prítomných v surových alebo nedostatočne tepelne spracovaných kraboch alebo rakoch. Z metacerkárií sa v tenkom čreve uvoľňujú larvy, ktoré prenetrujú cez stenu čreva do peritoneálnej dutiny. Larvy migrujú cca týždeň, a potom preniknú cez bránicu do pleurálnej dutiny a cez pľúcne tkanivo do bronchov. Tu vytvárajú cystické dutiny a vyvíjajú sa v dospelé parazity (6–8 mm veľké). V pľúcach motolice vyvolávajú zápal s tvorbou fibrózných cýst s hnisavo-krvavým obsahom a s tvorbou vajíčok. Vajíčka sú expektoráciou vylučované do prostredia alebo sú prehltnuté a vylučované stolicou. Ak sa vajíčka dostanú do vhodného prostredia – sladkej vody, vyliahnu sa z nich miracidie, ktoré napadnú svojho prvého špecifického medzihostiteľa hostiteľa – slimáka. Z infikovaného slimáka sa neskôr uvoľnia tisícky cercárií, ktoré sa encystujú ako metacerkárie do žiabrov, svalov, vnútorností druhého špecifického medzihostiteľa - sladkovodných kôrovcov (krabov a rakov).

Akútna fáza infekcie (invázia a migrácia parazita) sa môže manifestovať hnačkou, bolesťou brucha, horúčkou, kašľom, urtikáriou (žihľavkou, vyrážkou), hepatosplenomegáliou, eozinofíliou. Počas chronickej fázy infekcie ide najčastejšie o pľúcne ochorenie primonínajúce chronickú bronchitídu alebo tuberkulózu so symptómami ako sú kašeľ, vykašliavanie sfarbeného hlienu, hemoptýza, zmeny na rtg pľúc. Extrapulmonárna resp. ektopická lokalizácia dospelých motolíc (z migrácie motolíc) sa môže týkať akéhokoľvek orgánu a manifestuje oveľa závažnejšími symptómami, zvlášť pri postihnutí CNS. Mozog je najčastejšou ektopickou lokalizáciou parazita, kde sa dostáva krvnou cestou alebo pozdĺž nervov alebo prienikom mäkkých tkanív cez foramen jugulare. V mozgu býva parazit lokalizovaný v temporálnych a okcipitálnych lalokoch. Migrujúca motolica zanecháva za sebou chodby, kde sa tvoria abscesy a cysty. Okolo vajíčok parazita sa tvoria granulómy. **Cerebrálna paragonimóza** (postihujúca hlavne deti v endemických oblastiach) sa môže manifestovať ako

eozinofilná meningitídou, subakútnou encefalitída, meningoencefalitída, epilepsia, absces alebo tumor mozgu. Prítomnosť parazita v komore mozgu vedie k vzniku hydrocefalu. Symptómy zo strany CNS môžu zahŕňať bolesti hlavy, záchvaty, poruchy zraku a podobne. Veľa pacientov s postihnutím CNS, má aj pľúcnu infekciu.

Na potvrdenie a monitoring infekcie sa využíva sérodiagnostika (dôkaz špecifických protilátok – KFR, ELISA, imunoblot). Okrem laboratórnej diagnostiky je dôležitá aj anamnéza (konzumácia krabov alebo rakov), klinický obraz a charakteristické zmeny (ako strapce hrozna) na CT lokalizované v mozgu v temporálnych a okcipitálnych lalokoch.

Liekom voľby v liečbe paragonimózy je prazikvantel. V prípade cerebrálnej infekcie sa prazikvantel kombinuje s kortikosteroidmi na zníženie zápalovej reakcie.

5.3.2 Pásomnice (Cestoda)

Taenia

Taenia solium

T. solium (pásomnica obyčajná/dlhočlánková/prasacia) je pôvodcom črevnej cestodózy – **teniózy**, ako aj tkanivovej cestodózy – **cysticerkózy**. Dospelé červy parazitujú v tenkom čreve človeka, ktorý je definitívny hostiteľ; ich larvy parazitujú v rôznych orgánoch medzihostiteľov (ošípané). Človek sa nakazí požitím tepelne neupraveného resp. tepelne zle upraveného mäsa z ošípanej, ktoré obsahuje larvocysty pásomnice (larvocysta – cysticercus). V tenkom čreve človeka sa z cysticerka uvoľní hlavička – scolex, ktorá sa prisaje na sliznicu tenkého čreva. Tu dorastie na dospelú pásomnicu. Nakazený človek vylučuje stolicou denne niekoľko článkov, ktoré obsahujú vajíčka. Vajíčko musí prehltnúť medzihostiteľ (ošípaná), aby vývoj pokračoval. V čreve ošípanej sa z vajíčka uvoľní larva, ktorá preniká cez črevnú stenu a krvou sa dostáva do svaloviny ošípanej, kde sa mení na cysticercus.

Aj človek sa môže príležitostne stať medzihostiteľom. Človek ako medzihostiteľ sa infikuje požitím vajíčok pásomnice. V čreve sa z vajíčok vyvolnia larvy – onkosféry, ktoré prenetrujú cez stenu čreva do krvi a krvou do rôznych tkanív, najčastejšie do mozgu, kde vzniká larvocysta - cysticerkus. Ochorenie larválnym štádiom sa volá cysticerkóza; pri postihnutí CNS **neurocysticerkóza**. Rastúce cysticerky vyvolávajú vážne poruchy. V mozgu cysticerkus dosahuje až veľkosti 6 cm, pričom nemusí byť len jeden a môže sa nachádzať aj v mieche. Neliečené ochorenie môže mať fatálny koniec. Výskyt ochorenia je kozmopolitný, v tropických a subtropických krajinách endemický. Podľa lokalizácie larvocýst v CNS sa rozlišuje neurocysticerkóza parenchymálna, subarachnoidálna a intraventrikulárna. Larvocysty sa môžu vyskytovať v šedej alebo bielej hmote mozgu, mozgovom kmeni, mozočku alebo v mieche. Jedinci s neurocysticerkózou sú v počiatočných štádiách ochorenia obyčajne asymptomatickí. Neskôr sa môžu objaviť epileptické záchvaty, bolesti hlavy a hydrocefalus. Larvocysty prítomné na báze mozgu alebo medzi mozgovými plenami môžu byť príčinou arachnoiditídy, meningitídy, paralýzy kraniálnych nervov a cerebrovaskulárnych komplikácií (najčastejšie lakunárne infarkty). Intraventrikulárna lokalizácia larvocýst sa manifestuje bolesťami hlavy až stratou vedomia.

V mikrobiologickej diagnostike cysticerkózy sa používa nepriamy sérologický dôkaz pomocou ELISA metódy na dôkaz špecifických protilátok.

Liekom voľby je prazikvantel.

Taenia multiceps

Infekcia **coenuróza** je spôsobená larvami pásomnice *T. multiceps* (pásomnica psia), ktorá je parazitom oviec. U človeka spôsobuje hoci vzácne, ale závažné ochorenie coenurózu s výskytom v Afrike, Južnej Amerike, na Sardínii. Človek sa nakazí po prehltnutí vajíčok pásomnice, z ktorých sa uvoľňujú larvy – onkosféry. Tie sa krvným obehom dostávajú do mozgu, kde tvoria cysty – *coenurus*. V mozgu sú prítomné predovšetkým v cisterna magna a môžu vyvolať arachnoiditídu a hydrocefalus. Klinicky sa coenuróza manifestuje bolesťami hlavy, horúčkou a zvracaním, prípadne sa môžu objaviť aj iné symptómy z postihnutia CNS (nervová paralýza, epilepsia, pachymeningitída, hydrocefalus, intrakraniálna arteritída s prechodnou hemiparézou).

Ochorenie sa diagnostikuje na základe histologického vyšetrenia cýst verifikovaných v mozgu použitím MR alebo CT.

Echinococcus

Echinokokóza je zoonotická parazitárna infekcia, ktorá postihuje viac ako 1 milión ľudí na svete. U ľudí existujú dve významné formy infekcie – cystická echinokokóza (spôsobená larvocystou *Echinococcus granulosus* – pásomnica psia) a alveolárna echinokokóza (spôsobená larvocystou *Echinococcus multilocularis* – pásomnica líščia).

Echinococcus granulosus

E. granulosus (mechožil zhubný) je črevný parazit – pásomnica, ktorá spôsobuje ochorenie nazývané **cystická echinokokóza/hydatidóza**. Pásomnica je dlhá 2-7 mm, ktorej telo tvoria len tri články. Parazituje u psov a psovích šeliem, u ktorých v tráviacom trakte produkuje infekčné vajíčka. Vajíčka sa so stolicou dostávajú do vonkajšieho prostredia a s potravou do organizmu medzihostiteľa (bylinožravce, ale aj človek). Človek sa náhodne infikuje úzkym kontaktom so psom infikovaným touto pásomnicou. Po požití vajíčok (fekálno-orálnou cestou), sa z vajíčok uvoľnia larvy – onkosféry, ktoré penetrujú cez stenu tenkého čreva a krvou sa dostávajú do rôznych orgánov – predovšetkým do pečene, niekedy aj do iných orgánov, najmä do mozgu a pľúc. Z onkosféry sa vyvinie pomaly rastúca cysta tzv. echinokoková cysta. Cysta svojím rastom deštruuje okolité tkanivo a klinicky sa môže manifestovať ako tumorózny útvar.

Pri postihnutí CNS – **neurohydatidóze** sú cysty lokalizované v mozgu, najčastejšie v bielej hmote parietálnych lalokov. Ide o solitárne cysty, ktorých možnou ruptúrou vznikajú mnohopočetné cysty. Klinicky sa ochorenie môže prejavovať bolesťami hlavy, epilepsiou a podobne.

Diagnostika infekcie je založená na dôkaze špecifických protilátok metodikami - ELISA, Western blot, IF, nepriama aglutinácia; dôkaze DNA larvocýst pásomníc vo vzorkách odobratých z cystických útvarov, prípadne dôkaze kalcifikovaných

protoskolexov v histologických preparátoch. Typické orgánové lézie dokážeme pomocou zobrazovacích techník (MR, CT).

Účinnou liečbou je chirurgické odstránenie echinokokovej cysty. U inoperabilných jedincov a k zaisteniu perioperačného priebehu kvôli možnosti inokulácie v priebehu chirurgického zákroku sa podávajú antiparazitiká - mebendazol alebo albendazol.

Preveniou je nekŕmiť psov surovým mäsom, najmä vnútornosťami a pravidelná dehelmintizácia psov (odčervovanie).

Echinococcus multilocularis

E. multilocularis (mechožil bublinatý), vyvoláva **alveolárnu echinokokózu/cestodózu** charakterizovanú tvorbou mnohokomorových cýst v pečeni. Dospelá pásomnica je menšia ako *E. granulosus*, meria 1,2-4,5 mm, má 2-6 článkov. Parazituje v čreve líšky, vlka, zriedka psa a mačky. Človek sa nakazí požitím vajíčok (fekálno-orálnym prenosom napr. pri konzumovaní lesných plodov kontaminovaných líščimi fekáliami). Z vajíčok sa uvoľnia larvocysty – onkosféry. Larvocysty sa u človeka lokalizujú prevažne v pečeni, kde tvoria pomaly rastúce cysty. Cysta sa chová ako malígny nádor s možnosťou tvorby metastáz do mozgu a pľúc. Alveolárna echinokokóza je najnebezpečnejšia forma echinokokózy. Neuroinfekcia – **neurocestodóza** býva zriedkavá a predstavuje terminálne štádium metastázujúcej alveokokózy. V mozgu sa môžu tvoriť multicystické lézie prítomné v oboch hemisférach. Klinicky sa infekcia prejavuje bolesťami hlavy, nauzeou, záchvatmi.

Diagnostika infekcie je založená na dôkaze špecifických protilátok metodikami - ELISA, Western blot, IF, nepriama aglutinácia; dôkaze DNA larvocýst pásomníc vo vzorkách odobratých z cystických útvarov, prípadne dôkaze kalcifikovaných protoskolexov v histologických preparátoch. Typické orgánové lézie dokážeme pomocou zobrazovacích techník (MR, CT).

Liečba je podobná ako u *E. granulosus*.

5.3.3 Hlístovce (Nematoda)

Trichinella spiralis

T. spiralis (svalovec stočený) vyvoláva helmintozoonózne tkanivové ochorenie **trichinelózu** (ochorenie sa vyskytuje prakticky na celom svete). Rezervoárom sú rôzne zvieratá - ošípané, diviak, vlk, pes, rys, líška. V mäse týchto infikovaných zvierat sa nachádzajú opuzdrené larvy trichinel. Po konzumácii surového resp. nedostatočne tepelne upraveného takéhoto mäsa sa larvy dostanú do organizmu človeka. V žalúdku sa púzdro rozpustí a larva sa uvoľní. V tenkom čreve larvy dospejú a samičky sa zavrtávajú do črevnej sliznice, kde rodia živé larvy, ktoré sú aktívnym pohybom a krvou zanesené do rôznych orgánov, predovšetkým do priečne pruhovaných svalov, kde sa larvy opúzdria. Po niekoľkých mesiacoch púzdro larvy skalcifikuje, pričom larva v ňom prežíva. V okolí opúzdrenej larvy dôjde k zápalovej reakcii. Larvy sa môžu postihnúť aj CNS, o čom svedčí zvýšenie tlaku v likvore, edematózne meningy s drobnými krvácami. Ochorenie môže prebiehať asymptomaticky až fulminantne končiacie smrťou.

Mikrobiologická diagnostika používa nepriamy sérologický dôkaz - dôkaz špecifických protilátok (ELISA, confirmácia Western blot).

V liečbe sa používajú antinematodiká, deriváty benzimidazolu – mebendazol alebo albendazol s kortikosteroidmi (tlmia reakciu organizmu na hostiteľské larvy).

Toxocara spp.

Toxocara spp. sú pôvodcami ochorenia nazývaného **toxokaróza**. Dospelé červy (samce dosahujú dĺžku 10 cm a samice až 18 cm) parazitujú v tráviacom trakte psa - *Toxocara canis* (škrkavka psia) alebo mačky - *Toxocara cati* (škrkavka mačacia), kde produkujú infekčné vajíčka. Vajíčka sú vylučované do vonkajšieho prostredia stolicou. Infekcia je viazaná na geofágiu (napr. zdrojom môžu byť detské pieskoviská). Po prehltnutí vajíčok, sa z vajíčok vyvinú infekčné larvy, ktoré sa cez stenu čreva dostávajú krvou do rôznych orgánov ako sú pečeň, pľúca a CNS. Klinické príznaky sú rôzne, súvisia s lokalizáciou lariev. V miestach prítomnosti lariev vznikajú hemorágie, zápal až nekróza, neskôr granulómy

veľkosti 1 - 2 mm. Larvy môžu v granulómoch prežívať aj niekoľko rokov. Klinicky pri **neurotoxokaróze** sú prítomné bolesti hlavy, neuropsychické poruchy, kŕče a poruchy vedomia.

Mikrobiologická laboratórna diagnostika je založená na nepriamom sérologickom dôkaze špecifických protilátok metódou ELISA alebo imunoblotom – Western blotom. Významným markerom je aj vysoká hladina eozinofilov a zvýšená hladina celkových IgE protilátok.

V liečbe sú najúčinnnejšie tiabendazol a mebendazol alebo albendazol.

Prevenciou je dehelmintizácia psov a mačiek, odstraňovanie zvieracích výkalov z verejných miest a pravidelná dekontaminácia detských ihrísk a pieskovísk.

Angiostrongylus spp.

Angiostrongylus spp. sú pôvodcami helmintozoonózy - **angiostrongylózy**, ktorá sa vyskytuje predovšetkým v juhovýchodnej Ázii a na tropických tichomorských ostrovoch. Infekcia bola zistená aj v oblastiach Afriky, Karibiku a USA. Závažnú mozgovú formu – **neuroangiostrongylózu** spôsobujú u ľudí dva druhy nematód (hlístovcov), a to *A. cantonensis* a *A. malayensis*.

Človek sa môže nakaziť, aj keď zriedka, konzumáciou surového alebo zle tepelne upraveného infikovaného slimáka (medzihostiteľ) s larvami. Larvy môžu preniknúť do mozgu, do kapilár mozgových blán a spôsobiť eozinofilnú meningitídu/meningoencefalitídu. V tkanive migrujúce larvy vytvárajú chodbičky. Po odumretí lariiev, sa okolo nich tvoria granulómy. Klinicky sa ochorenie manifestuje bolesťami hlavy, nauzeou, zvracaním, stuhnutosťou šije, ojedinele aj parestéziou; u detí býva prítomný papiloedém. V mozgovomiešnom moku je prítomná eozinofilná pleocytóza. Priebeh ochorenia závisí od množstva migrujúcich lariiev, ako aj ich lokalizácie v mozgu. U väčšiny pacientov dochádza k spontánnemu vyliečeniu, v ojedinelých prípadoch môže dôjsť k vážnym komplikáciám až smrti.

V krvi a v likvore nachádzame vysokú hladinu eozinofilov. Likvor môže byť číry alebo mierne zakalený. Diagnózu môže potvrdiť prítomnosť lariiev v likvore alebo

v bioptickom materiáli mozgu, čo je však len výnimočným nálezom. Novým testom dôkazu infekcie je vyšetrenie DNA parazita v likvore PCR metódou.

V diagnostike okrem laboratórneho nálezu je dôležitá cestovateľská anamnéza a konzumácia surových alebo nedostatočne uvarených slimákov, ako aj klinické prejavy meningitídy. Zo zobrazovacích techník – MR s kontrastom odhalí poškodenie meningov a mozgu.

Na základe výsledkov štúdií sa doporučuje kombinácia antihelmintika – albendazolu s kortikosteroidmi.

Baylisascaris procyonis

Škrkavka *B. procyonis*, ktorej hostiteľom je mýval (medvedík mýval) spôsobuje ochorenie označované ako **baylisascariasis**. Škrkavkou sa môžu infikovať ľudia ako aj rôzne iné zvieratá, vrátane psov. Humánne infekcie sú zriedkavé, ale o to závažnejšie, v prípade, že parazit invaduje oko (ocular larva migrans) alebo iné orgány (visceral larva migrans), ako aj CNS (neural larva migrans).

B. procyonis bola dokázaná v USA, Európe, Japonsku, aj Južnej Amerike. Človek sa nakazí náhodným požitím infikovaných vajíčok, prítomných v pôde, vode, alebo na iných predmetoch kontaminovaných výkalmi mývala. Vajíčka sú vylučované výkalmi mývala do vonkajšieho prostredia. Požitie infikovaných vajíčok je najčastejšie u detí. Z vajíčok sa v čreve človeka vyliahnu larvy, ktoré migrujú po tele do rôznych orgánov a svalov. Symptómy infekcie teda závisia od postihnutého orgánu. Ocular larva migrans – larvy migrujú do oka a spôsobujú zápal oka, fotosensitivitu a slepotu. Visceral larva migrans – larvy migrujú do vnútorných orgánov a symptómy závisia od toho, ktorý orgán je infikovaný larvami. V prípade postihnutia pečene ide o hepatomegáliu, pri invázii do pľúc je to kašeľ a bolesť na hrudníku. **Neural larva migrans** – najzávažnejšia infekcia, kedy larvy migrujú do mozgu a spôsobia eozinofilnú meningoencefalitídu, končiacu fatálne.

Infekcia sa ťažko diagnostikuje, pretože symptómy závisia na infekčnej dávke (množstva požitých infikovaných vajíčok) a lokalizácie lariev v tele, plus nie sú

dostupné diagnostické testy pre túto infekciu. Diagnóza sa stanovuje obyčajne na základe vylúčenia iných infekcií s podobnými symptómami. Dôležitá je aj anamnéza t.j. kontakt so zvierateľom, alebo zvieracími výkalmi.

V liečbe nie je žiadny liek, ktorý by bol úplne účinný voči infekcii. Odporúča sa liečba albendazolom. Včasná liečba môže znížiť poškodenie spôsobené infekciou.

Prevenciou je vyhýbať sa kontaktu so zvierateľom – mývalom a kontaktu s jeho výkalmi. Hygiena – umývanie rúk po práci resp. hraní sa vonku je prevenciou množstva infekcií.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

Beneš J: Antibiotika systematika, vlastnosti, použití, ed 1 Praha, Grada Publishing, a.s., 2018.

Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ: Antibiotic and chemotherapy. Anti-infective agents and their use in therapy, ed 9 Elsevier, 2010.

Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman M, Roitt IM, Chiodini PL. Mims' Medical microbiology, ed 6 Elsevier, 2018.

Harvey RA, Champe PC, Fisher BD: Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology, ed 2 Baltimore, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Hurych J, Štícha R et al. ve spolupráci s Ústavem lékařské mikrobiologie 2. LF UK: Lékařská mikrobiologie – repetitorium, ed 2 Praha, Stanislav Juhaňák – Triton, 2021.

Kompaníková J, Neuschlová M, Sadloňová V: Special bacteriology basic laboratory tests, ed 1 Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine, 2016.

Kompaníková J, Nováková E, Neuschlová M: Mikrobiológia nielen pre medikov, ed 1 Žilina, EDIS, 2013.

Kompaníková J, Nováková E, Neuschlová M: Mikrobiológia nielen pre medikov, ed 2 Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine, 2019.

Liptáková A et al.: Lekárska mikrobiológia, ed 1 Bratislava, Herba, spol. s r.o., 2019.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA: Medical microbiology, ed 8 Philadelphia, Elsevier, 2016.

Neuschlová M, Kompaníková J, Sadloňová V, Nováková E: Immunology basic laboratory tests, ed 1 Comenius University in Bratislava Jessenius Faculty of Medicine in Martin, 2021.

Neuschlová M, Nováková E, Kompaníková J: Návody na praktické cvičenia z imunológie, ed 1 Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine, 2016.

Nováková E, Kubíčková T, Ondriska F: Lekárska parazitológia, ed 1 PRO Banská Bystrica, 2006.

Nováková E, Sadloňová J, Kompaníková J, Neuschlová M, Sadloňová V: Microbiology – principal and interpretation of laboratory examination, ed 2 Comenius University in Bratislava Jessenius Faculty of Medicine in Martin, 2018.

Varsík P et al.: Repetitorium špeciálnej neurológie, ed 1 Bratislava, Vydavateľstvo S+S typografik, 2003.

Mead S, Khalili-Shirazi A, Potter C, Mok T, Nihat A, Hyare H, Canning S, Schmidt C, Campbell T, Darwent L, Muirhead N, Ebsworth N, Hextall P, Wakeling M, Linehan J, Libri V, Williams B, Jaunmuktane Z, Brandner S, Rudge P, Collinge J: Prion protein monoclonal antibody (PRN100) therapy for Creutzfeldt-Jakob disease: evaluation of a first-in-human treatment programme. Lancet Neurol 2022 21(4):342-354.

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt06-culture-id.html>

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt06-culture-id.html>

<http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/37-haemophilus-chocolate-2-agar>

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt06-culture-id.html>

<https://clsi.org/about/blog/implementation-of-the-clsi-method-for-direct-disk-diffusion-testing-from-positive-blood-cultures/>

<https://www.biomerieux-microbio.com/new-etest-ceftolozane-tazobactam-c-t-256-mic-determination-helps-optimize-therapy-for-serious-infections/>