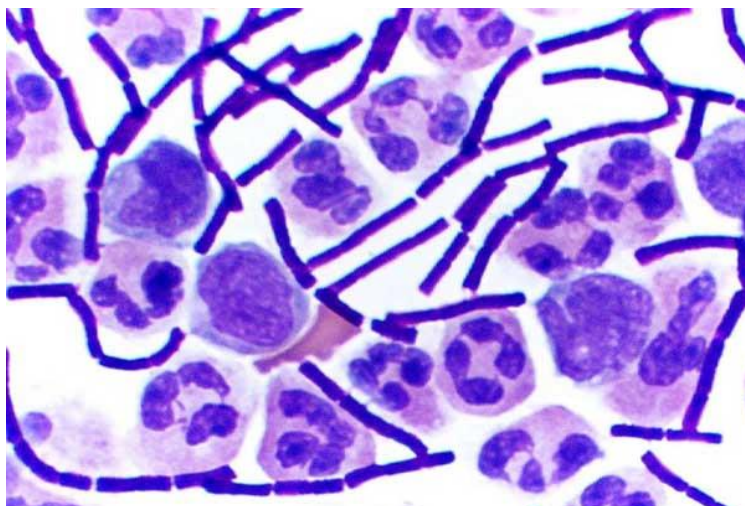


Kompaniková
Nováková
Neuschlová

MIKROBIOLÓGIA NIELEN PRE MEDIKOV

2. upravené a doplnené vydanie

*bakteriológia
viroológia
mykológia
parazitológia*



Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine
2019

Mikrobiológia nielen pre medikov

2. upravené a doplnené vydanie

**MUDr. Jana Kompaniková, PhD.
Doc. MUDr. Elena Nováková, PhD.
MUDr. Martina Neuschlová, PhD.**

2019

**Tieto skriptá sú výstupom projektov
KEGA č. 032UK-4/2019 MŠV VaŠ SR
KEGA č. 038UK-4/2019 MŠV VaŠ SR**

Autori: Jana Kompaniková, Elena Nováková, Martina Neuschlová:
Ústav mikrobiológie a imunológie. Univerzita Komenského v Bratislave
Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Vydavateľ: Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine
Elektronická verzia: Portál MEFANET JLF UK
Vydanie: druhé upravené a doplnené
Počet strán: 333
Rok vydania: 2019

© J. Kompaniková, E. Nováková, M. Neuschlová 2019
ISBN 978-80-8187-069-9
EAN 9788081870699

Obsah

1 BAKTÉRIE	7
1.1 Grampozitívne koky	7
Stafylokoky	7
Úlohy na praktické cvičenia	12
Streptokoky a enterokoky	18
Úlohy na praktické cvičenia	26
1.2 Gramnegatívne koky	34
Neissérie	34
Úlohy na praktické cvičenia	38
Baktérie príbuzné neissériám	41
<i>Eikenella corrodens</i>	42
<i>Kingella kingae</i>	43
1.3 Grampozitívne sporulujúce paličky	45
Bacily	45
Úlohy na praktické cvičenia	49
1.4 Grampozitívne nesporulujúce paličky	52
Korynebaktérie	52
Úlohy na praktické cvičenia	55
Listérie	58
Úlohy na praktické cvičenia	59
Erysipelotrix	60
1.5 Grampozitívne anaeróbne sporulujúce paličky	63
Klostrídiá	63
Úlohy na praktické cvičenia	74
1.6 Anaeróbne nesporulujúce baktérie	76
Aktinomycéty	77
Mobiluncus	80
Laktobacily	81
Propionibaktérie	82
1.7 Gramnegatívne fakultatívne anaeróbne fermentujúce	86
paličky	86
<i>Escherichia coli</i>	88
Salmonely	90
Šigely	94
Yersínie	96
Ostatné Enterobacteriaceae	100
Úlohy na praktické cvičenia	102
1.8 <i>Vibriá</i> a <i>Aeromonas</i>	107
1.9 <i>Campylobacter</i> a <i>Helicobacter</i>	111
Úlohy na praktické cvičenia	117
1.10 Nefermentujúce gramnegatívne paličky	119
Pseudomonády a príbuzné baktérie	119
Ostatné nefermentujúce gramnegatívne paličky	122
Úlohy na praktické cvičenia	123
1. 11 Ostatné gramnegatívne paličky	124
Brucely	124
Francisella	127
Pasteurelly	129

Legionely	131
Bartonely	133
Cardiobacterium a Streptobacillus	135
Bordetely	135
Hemofily	138
Úlohy na praktické cvičenia	141
1.12 Spirochéty	144
Treponémy	145
Úlohy na praktické cvičenia	148
Leptospiry	149
Borélie	151
1.13 Baktérie bez bunkovej steny	154
1.14 Striktne intracelulárne baktérie	157
Rickettsia, Orientia	157
Coxiella, Ehrlichia, Anaplasma	160
1.15 Chlamýdie a chlamydofily	162
1.16 Acidorezistentné baktérie	165
Mykobaktérie	165
Úlohy na praktické cvičenia	174
Nokardie a príbuzné baktérie	175
2 VÍRUSY	178
2.1 DNA vírusy	180
Papillomavírusy	180
Polyomavírusy	182
Adenovírusy	183
Parvovírusy	185
Herpesvírusy	188
2.2 RNA vírusy	203
Pikornavírusy	203
Norovírusy	210
Coronavírusy	212
Flavivírusy	213
Togavírusy	216
Orthomyxovírusy	220
Paramyxovírusy	224
Rhabdovírusy	232
Filovírusy	235
Bunyavírusy	237
Arenavírusy	239
Reovírusy	240
Lentivírusy	244
Onkovírusy	248
2.3 Vírusy hepatitíd - zhrnutie	249
Úlohy na praktické cvičenia	252
2.4 Prióny – nekonvenčné vírusy	256
3 HUBY	259
3.1 Laboratórna diagnostika mykóz	262
3.3 Superficiálne mykózy	266
Malassezia furfur	266
Hortaea (Exophiala) werneckii	267
Trichosporon	267

Piedraia hortae	267
3.4 Kožné mykózy	268
3.5 Podkožné mykózy	271
Lymfokutánná sporotrichóza	271
Chromoblastomykóza.....	272
Eumykotický mycetóm.....	274
Subkutánná faeohyfomykóza.....	275
3.6 Systémové mykózy	277
Blastomykóza.....	277
Histoplazmóza.....	278
Coccidioidomykóza.....	279
Paracoccidioidomykóza.....	281
3.7 Oportúnne mykózy	283
Candida.....	283
Aspergillus.....	284
Pneumocystis jirovecii	285
Cryptococcus neoformans	286
Mukormykóza	288
Úlohy na praktické cvičenia	290
4 PARAZITY	294
4.1 Laboratórna parazitárnych nákaz	297
4.2 Liečba parazitárnych nákaz	298
4.3 Medicínsky významné protozoa	299
Entamoeba histolytica (améba).....	299
Naegleria fowleri (voľne žijúce améby).....	301
Giardia lamblia (flagellata).....	303
Trichomonas vaginalis (flagellata).....	305
Plasmodium (sporoza).....	307
Toxoplasma gondii (sporoza)	309
Trypanosoma (flagellata).....	312
Leishmania (flagellata).....	315
4.4 Medicínsky významné červy	317
Enterobius vermicularis.....	317
Ascaris lumbricoides	318
Ancylostoma duodenale	319
Trichinella spiralis.....	321
Toxocara canis/cati.....	322
Dracunculus medinensis	323
4.4.2 PLATHELMINTHES.....	325
Schistosoma mansoni/haematobium	325
Taenia solium.....	327
Hymenolepis nana	327
Echinococcus granulosus.....	327
Úlohy na praktické cvičenia	329
LITERATÚRA	331

1 BAKTÉRIE

1.1 Grampozitívne koky

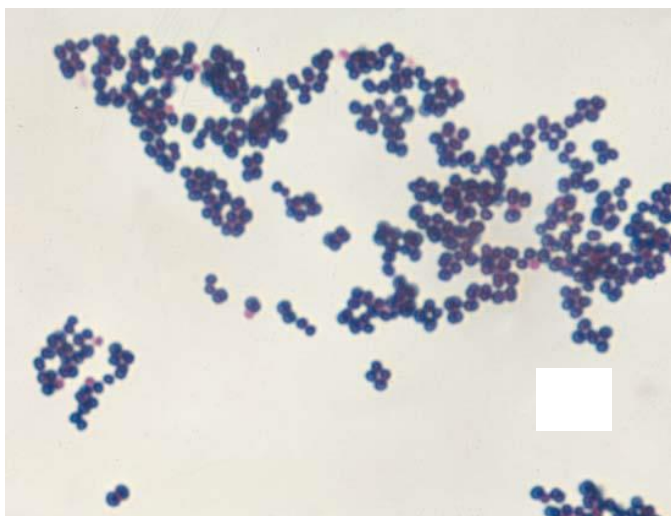
Stafylokoky

Rod: *Staphylococcus*

druh: *aureus*
epidermidis
saprophyticus
haemolyticus
warneri

Všeobecná charakteristika

Stafylokoky sú fakultatívne anaeróbne, grampozitívne koky, obvykle usporiadané v zhlukoch pripomínajúcich strapce hrozna. V klinických vzorkách sa môžu vyskytovať aj jednotlivo, vo dvojiciach alebo v krátkych retiazkach. Veľkosť stafylokokov je v rozmedzí od 0,5 – 1,5 μm , sú nepohyblivé, nesporulujúce, rastú na kultivačných pôdach s vysokým obsahom soli, pri teplote 18°C – 40 °C. Stafylokoky sú u človeka prítomné na koži a slizniciach, vyvolávajú systémové infekcie, infekcie kože, mäkkých tkanív, kostí, močového traktu a oportúnne infekcie. Podľa schopnosti produkovať enzým plazmakoagulázu (PK) rozdeľujeme stafylokoky na dve základné skupiny - plazmakoaguláza negatívne a plazmakoaguláza pozitívne. PK pozitívne sú *S. aureus*, *S. intermedius*, PK negatívne sú *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hemolyticus*. Plazmakoaguláza je enzým premieňajúci fibrinogén na fibrín a spôsobujúci koaguláciu plazmy. *S. aureus* produkuje voľnú a viazanú plazmakoagulázu.



Obr. 1. Usporiadanie stafylokokov. Svetelný mikroskop.

<http://2.bp.blogspot.com/-omEGNs7pL3g/T8RfOTUZG8I/AAAAAAAAAQc/5aN0ijZFRtM/s1600/SA.jpg>

Tabuľka 1. Ochorenia vyvolané stafylokokmi.

Baktéria	Ochorenie
<i>S. aureus</i>	Vyvolané toxínmi: <ul style="list-style-type: none"> - stafylokoková enterotoxikóza (otrava z jedla) - syndróm obarenej kože - syndróm toxického šoku Kožné: <ul style="list-style-type: none"> - karbunkuly, folikulitída, furunkuly, impetigo, infekcie rán Ostatné: <ul style="list-style-type: none"> - bakterémia, endokarditída, pneumónia, empyém, - osteomyelitída, - septická artritída
<i>S. epidermidis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - bakterémia, endokarditída - infekcie chirurgických rán - infekcie močového traktu - oportúnne infekcie (katétre, umelé náhrady a p.)
<i>S. saprophyticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - infekcie močového traktu - oportúnne infekcie
<i>S. haemolyticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - bakterémia, endokarditída - infekcie kostí a kĺbov - infekcie močového traktu - infekcie rán
<i>S. lugdunensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - endokarditída - artritída - bakterémia - infekcie močového traktu - oportúnne infekcie

Štruktúra, patogénny potenciál a imunita

Púzdro a slizová vrstva

V súčasnosti je u stafylokokov identifikovaných 11 puzdrových sérotypov. Polysacharidové púzdro stafylokokov inhibuje chemotaxiu a chráni baktérie pred fagocytózou polymorfonukleárnymi leukocyty. Väčšina stafylokokov produkuje slizovú vrstvu, ktorá je rozpustná vo vode a obsahuje monosacharidy, peptidy a proteíny. Táto extracelulárna substancia umožňuje baktériám prichytiť sa na tkanivá, na plastové alebo kovové povrchy (katétre, umelé chlopne a podobne), čím sa zabezpečí prežitie relatívne avirulentných kmeňov kaguláza-negatívnych stafylokokov.

Bunková stena

Peptidoglykán bunkovej steny pôsobí chemotakticky na polymorfonukleárne leukocyty, vyvoláva tvorbu hnisu a abscesov, aktivizuje komplement, je rozpúšťaný lyzozýmom. Spúšťa imunitnú reakciu, stimuluje produkciu endogénnych pyrogénov a interleukínu-1 z monocytov.

Kyselina teichoová a lipoteichoová

Kyselina teichoová je súčasťou bunkovej steny stafylokokov, obsahuje fosfátové polyméry, ktoré sa kovalentne viažu na N-acetylmurámové reziduá peptidoglykánú alebo na lipidy v cytoplazmatickej membráne buniek (kyselina lipoteichoová). Je druhovo špecifická, viaže sa na fibronektín slizničných povrchov. Kyselina teichoová je slabý imunogén, protilátky proti nej sú prítomné pri systémových stafylokokových infekciách.

Toxíny

S. aureus ako hlavný pôvodca ochorení u ľudí produkuje veľké množstvo toxínov: cytolytické toxíny, enterotoxíny, exfoliatívne toxíny a toxín syndrómu toxického šoku (TSST-1).

V patogenéze ochorení sa uplatňujú:

- **proteín A** – len u *S. aureus* - je substancia schopná viazať Fc fragment imunoglobulínu G, čím spôsobí jeho neúčinnosť. Táto vlastnosť sa využíva pri sérologických testoch
- **cytotoxíny alfa, beta gama, delta**: poškodzujú bunkové membrány a spôsobujú tkanivové poškodenie, tvorbu abscesov, nekróz.
- **Alfa-toxín *S. aureus***: polypeptidový toxín, účinkuje priamo na plazmatickú membránu mnohých buniek, vnára sa do tukovej dvojvrstvy a vytvára póry, ktoré umožňujú iónom prechádzať do bunky a z nej von. Predovšetkým ióny draslíka unikajú z bunky a sodík a kalcium vstupujú do vnútra bunky. To vedie k osmotickej lýze bunky. Alfa-toxín je produkovaný väčšinou kmeňov *S. aureus*.
- **Gama-toxín a Panton-Valentine (P-V) leukocidín**: pozostávajú z dvoch polypeptidových reťazcov, reťazca S a reťazca F, ktoré spolu vytvárajú póry v plazmatickej membráne buniek. Gama-toxíny sú hemolytické, P-V leukocidín nie je. Gama-toxíny sú produkované takmer všetkými kmeňmi *S. aureus*, P-V leukocidín len menšinou kmeňov.
- **Delta-toxín**: je malý proteín, cytotoxický pre mnohé bunky. Môže pôsobiť ako detergent, poškadzovať dvojvrstvové bunkové membrány a spôsobovať tak cytolyzu.
- **Beta-toxín**: poškodzuje bunkové membrány degradáciou lipidov, sfingomyelinu a derivátov cholínu. Toxín sfingomyelináza C je jediným peptidom, ktorý je vytváraný väčšinou kmeňov *S. aureus*. Ukazuje sa, že stupeň jeho toxicity závisí na koncentrácii týchto lipidov v bunke, pričom obidva sa primárne nachádzajú vo vonkajšej vrstve dvojvrstvovej plazmatickej membrány.
- **leukocidín** – spôsobuje tvorbu pórov v plazmatickej membráne, zvýšenie permeability a rezistenciu voči fagocytóze
- **enterotoxín** – termostabilný, odoláva hydrolytickým účinkom žalúdočnej tekutiny. Vyskytuje sa ako typy A-E. Je prítomný predovšetkým u niektorých kmeňov *S. aureus*. Má vlastnosti superantigénu – mohutného aktivátora T-lymfocytov, s následnou produkciou cytokínov, predovšetkým interleukínu-1.
- **exfoliatívny toxín** – epidermolytický toxín – exfoliatín – existujú 2 typy. Pôsobí rozrušenie intercelulárnych premostení – dezmozómov v stratum granulosum kože. Spôsobuje syndróm obarenej kože (bulózne impetigo, z angl. SSSS – staphylococcal scalded skin syndrome). Ochorenie začína ako lokálny periorálny erytém, ktorý sa šíri po celom tele a progreduje až do vyvinutia mäkkých pľuzgierov, ktoré praskajú, čo neskôr spôsobuje olupovanie kože podobne ako pri rozsiahlych popáleninách. Je antigénny a vyvoláva tvorbu neutralizujúcich protilátok. Imunologicky je **superantigénom**.

- **TSST – (z angl. toxic shock syndrome toxin)**- toxín syndrómu toxického šoku produkovaný niektorými kmeňmi *S. aureus*. Vyvoláva toxický šokový syndróm. Bol identifikovaný v súvislosti s kontamináciou hyperabsorbujúcich tampónov. Imunologicky má vlastnosti **superantigénu**, čo má za následok produkciu cytokínov, vaskulárne presakovanie a cytotoxicitu. Tento proces vyúsťuje do šoku a smrti následkom multiorgánového zlyhávania.
- **extracelulárne enzýmy** - sú toxíny enzýmovej povahy, účinkujúce na špecifické tkanivové štruktúry a vyvolávajúce ich deštrukciu: koaguláza, kataláza, fibrinolýzín (stafylokináza), Dnáza (nukleáza), lipáza, hyaluronidáza, penicilináza.

Vzhľadom na to, že existuje mnoho faktorov, ktoré stafylokoky používajú ako nástroje patogenity, je aj imunita proti stafylokokovým infekciám obvykle multifaktoriálna (kožné bariéry, slizničné sekréty, špecifické protilátky). Opúzdrené stafylokoky viažu opsoníny v sére (IgG, zložku komplementu C3), ale púzdro inhibuje fagocytózu. V prítomnosti špecifických protistafylokokových protilátok v sére dochádza k zvyšovaniu množstva C3, ktorý sa viaže na baktérie, čo následne vedie k fagocytóze. Schopnosť proteínu A viazať imunoglobulíny bráni protilátkami sprostredkovanému imunologickému odstráneniu *S. aureus*.

Tabuľka2. Ochorenia vavolané plazmakoaguláza negatívnyimi stafylokoki.

Plazmakoaguláza negatívne stafylokoky	<i>S. epidermidis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. lugdunensis</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívne koky - usporiadané do zhlukov - relatívne avirulentné - slizová vrstva - adherencia na cudzorodé telesá - ochrana pred fagocytózou - ochrana pred antibiotikami
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - subakútna endokarditída - infekcie cudzorodých telies (katétre, implantáty a pod.) - infekcie močových ciest
Epidemiológia	<ul style="list-style-type: none"> - fyziologická flóra kože a slizníc - dlhé prežívanie na suchých povrchoch - prenos - priamym kontaktom - kontaminovanými predmetmi - endogénne infekcie - zvýšené riziko vzniku ochorenia: prítomnosť cudzorodého materiálu
Diagnostika	mikroskopia – pri pyogénnych infekciách kultivácia - rýchly rast na neselektívnych médiách - selektívne médiá: Mani-sláný agar (odlíšenie od <i>S. aureus</i>)
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - oxacilín - penicilíny odolné voči penicilináze - vankomycin - pre kmene rezistentné na oxacilín - odstránenie cudzorodých telies

Ochorenia vyvolané *S. epidermidis* a ostatnými plazmakoaguláza negatívnymi stafylokokmi

S. epidermidis je obvykle prítomný na koži, prípadne orofaryngu, v gastrointestinálnom trakte a v urogenitálnom trakte. Je to podmienenčne patogénny mikroorganizmus, za určitých okolností môže byť vyvolávateľom vážnych infekcií (subakútna endokarditída). Podobne aj ostatné PK negatívne stafylokoky sa uplatňujú ako saprofyty alebo podmienenčne patogény vyvolávajúce endokarditídy, bakterémie, infekcie katétrov, náhrad kĺbov a ciev. Vyvolávateľom infektov močových ciest u mladých sexuálne aktívnych žien je *S. saprophyticus*. Prehľad základných charakteristík a ochorení vyvolaných plazmakoaguláza negatívnymi stafylokokmi je uvedený v tabuľke 2.

S. aureus je fyziologicky prítomný v axile, v oblasti nosa a perinea. Je etiologickým agensom:

- hnisavých kožných ochorení (absces, furunkul, karbunkul),
- sekundárnych infekcií kože (pyodermia, impetigo), rán (abscesy)
- komplikácií (bakterémia) – nozokomiálne kmene.



Obr. 2. Stafylokokový absces na koži.

<http://diseasespictures.com/wp-content/uploads/2012/10/MRSA-infection-3.jpg>

Život ohrozujúce infekcie sú podmienené sprievodným ochorením alebo zákrokom – pneumónia, meningitída, infekcie hlbokých tkanív (aspirácia, úraz, operačný zákrok). Prostredníctvom toxínov vyvoláva závažné klinické jednotky (stafylokoková enterotoxikóza, toxický šokový syndróm, syndróm obarenej kože, bulózne impetigo). Stafylokoky dlhodobo sprevádzajú ľudí a niektoré sú najpočetnejším predstaviteľom fyziologickej flóry kože. Prehľad infekcií vyvolaných koaguláza negatívnymi stafylokokmi

Laboratórna diagnostika a liečba

V minulosti boli všetky stafylokoky citlivé na PNC. V súčasnosti sa rozširujú, predovšetkým v nemocničnom prostredí, kmene *Staphylococcus aureus* rezistentné na protistafylokokové antibiotiká (oxacilín, meticilín) - MRSA, prípadne multirezistentné kmene (VRSA). Stafylokoky sú primárne citlivé na penicilín a penicilínové preparáty, protistafylokokové penicilíny (oxacilín, meticilín), cefalosporíny, vankomycín, makrolidy a chinolóny. Vzhľadom na výskyt rezistentných kmeňov sú penicilínové antibiotiká použiteľné len na základe testovania individuálnej citlivosti kmeňa. Rezistencia vzniká produkciou penicilinázy – enzýmu rozkladajúceho betalaktámový kruh penicilínových antibiotík. Jej šírenie je umožnené prenosom plazmidov. Rezistencia je obvykle súčasne aj na cefalosporínové antibiotiká.

Na oxacilín rezistentné stafylokoky sa nazývajú MRSA – meticilín (oxacilín) rezistentný *S. aureus*. U komunitných kmeňov (CoMRSA) je to obvykle izolovaná rezistencia na meticilín, resp. oxacilín, u nozokomiálnych kmeňov je často kombinovaná s rezistenciou na makrolidy, chinolóny. Je to multirezistencia prenosná

plazmidom. Rezistencia na vankomycín (VRSA – vankomycin rezistentný *Staphylococcus aureus*) je prenosná z iných nozokomiálnych kmeňov (z enterokoka rezistentného na vankomycín, VRE). Rezistencia na vankomycín nie je spôsobená produkciou betalaktamáz, a preto je vankomycín použiteľný na liečbu infekcií vyvolaných MRSA.

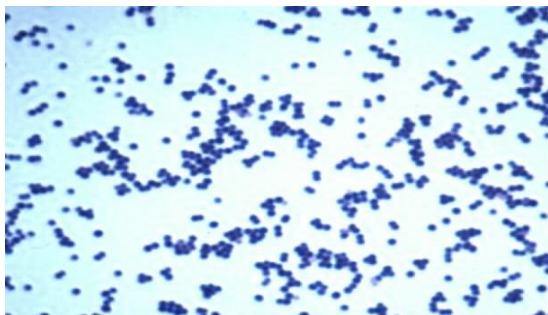
Chirurgický zákrok na odstránenie hnisu z miesta infekcie je dôležitý pri liečbe stafylokokových infekcií a zabezpečení účinnosti a dostupnosti ATB v mieste infekcie.

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopia stafylokokov

Prípravte fixovaný preparát z kultúry *S. aureus*, zafarbíte podľa Grama, mikroskopujete.

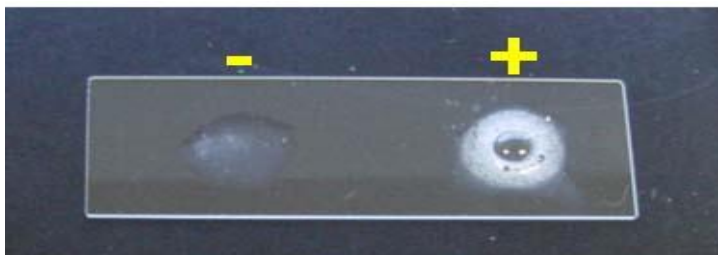
Stafylokoky majú charakteristické usporiadanie do strapcov či nepravidelných zhlukov. V mikroskopickom obraze budú pri pozorovaní stafylokokov prítomné i ďalšie štruktúry: jednotlivé koky, dvojice kokov (vzájomný dotyk len úzkou plochou) retiazky kokov (rôzne dlhé). Staré kultúry stafylokokov strácajú schopnosť udržať kryštalickú violet, preto môžu byť viditeľné ako gramlabilné až gramnegatívne koky.



Obr. 3. *Staphylococcus aureus* – farbenie podľa Grama.

B. Dôkaz produkcie katalázy

Kataláza je enzým, ktorý konvertuje peroxid vodíka (H_2O_2), pričom vzniká kyslík a voda. Na testované kolónie kvapneme peroxid vodíka. Ak testované bakteriálne bunky produkujú katalázu, pozitívna reakcia sa prejaví vznikom bubliniek kyslíka. Test je možné urobiť aj na podložnom sklíčku, kedy do kvapky peroxidu vodíka na podložnom sklíčku pridáme sterilnou bakteriologickou kľučkou kolóniu testovaných baktérii. Pozitívny výsledok sa opäť prejaví vznikom bubliniek kyslíka. Enzým kataláza je produkovaný väčšinou aeróbnymi a fakultatívne anaeróbnymi baktériami, hlavnou výnimkou sú streptokoky, ktoré sú kataláza-negatívne. Dôkaz produkcie katalázy patrí medzi základné testy, používané na odlišenie stafylokokov (kataláza-**pozitívne**) od streptokokov (kataláza-**negatívne**).



Obr.4. Katalázový test - pozitívny výsledok vpravo (viditeľné bublinky kyslíka).

<http://www.fidanoski.ca/medicine/staphylococcus-streptococcus.htm>

C. Kultivácia stafylokokov

Odlíšenie *S.aureus* a *S.epidermidis* - podľa makroskopického vzhľadu kolónií na krvnom agare

Stafylokoky dobre rastú na krvnom agare za aeróbnych (aj anaeróbných) podmienok. Kolónie sú dobre viditeľné po 24 hodinách kultivácie.

S. aureus vytvára obvykle vypuklé žlté kolónie (niekedy môžu byť šedo pigmentované) mazľavej konzistencie, obklopené širokou zónou β -hemolýzy. Hemolýza na krvnom agare vzniká ako dôsledok produkcie cytotoxínov, najmä alfa toxínu. *S. epidermidis* rastie v bielych kolóniách, bez viditeľnej hemolýzy.



Obr. 5. *Staphylococcus aureus* (vľavo) a *Staphylococcus epidermidis* (vpravo) – kolónie na krvnom agare.

<http://www.healthype.com/lab-tests-for-staph.html>

<http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/staphylococcus%20aureus%20photos/STAU%20A.html>

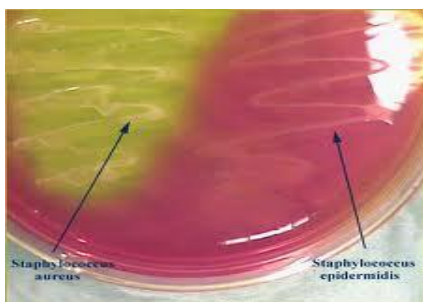
D. Biochemické vlastnosti stafylokokov

Odlíšenie *S.aureus* a *S.epidermidis* podľa biochemických vlastností

S. aureus a *S. epidermidis* je možné odlíšiť na základe fermentácie manitolu. Na tento dôkaz sa používa pôda manit - slaný agar (MSA). MSA je selektívne diagnostická pôda, ktorá obsahuje vysokú koncentráciu NaCl (7,5% - 10%), manitol a fenolovú červenú ako indikátor zmeny pH pôdy. Zvýšená koncentrácia soli inhibuje rast iných mikroorganizmov, zatiaľ čo stafylokoky takúto koncentráciu soli tolerujú a dobre rastú. Hoci obidva, *Staphylococcus epidermidis* aj *Staphylococcus aureus* tolerujú vysoké koncentrácie soli v MSA a sú schopné rásť, len *S. aureus* fermentuje manitol, čo spôsobí pokles pH kultivačného média (pH sterilnej pôdy je 7.4). Fenolová červená je višňovočervená pri pH 8,5; žltočervená v rozmedzí 6,9 až 8,5; a jasno žltá pri pH 6,9 a nižšom.

Ak dôjde k fermentácii manitolu, zmení sa farba pôdy z červenej na žltú – *S. aureus*.

Ak mikroorganizmus nefermentuje manitol, farba pôdy ostáva červená – *S. epidermidis*.



Obr.6. *S. aureus* (vľavo) a *S. epidermidis* (vpravo) na pôde manit slaný.

<http://pemburumikroba.blogspot.sk/2010/10/manitol-salt-agar.html>

E. Dôkaz produkcie plazmakoagulázy

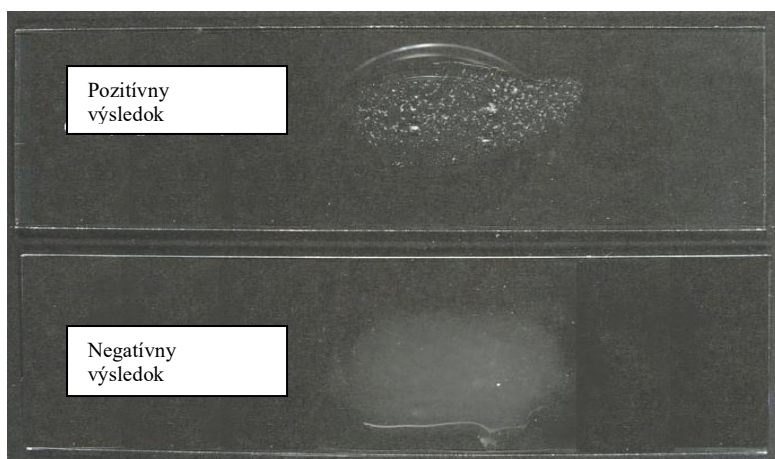
Odlíšenie *S.aureus* a *S.epidermidis* - podľa produkcie voľnej a viazanej plazmakoagulázy

Kmene *S. aureus* produkujú dve formy plazmakoagulázy, voľnú a viazanú. Viazaná plazmakoaguláza (viazaná na bunkovú stenu stafylokokov, angl. clumping factor) priamo konvertuje fibrinogén na nerozpustný fibrín. Voľná plazmakoaguláza reaguje s globulínovým plazma faktorom (coagulase-reacting factor) a formuje stafylotrombín, ktorý katalyzuje premenu fibrinogénu na nerozpustný fibrín. Úloha plazmakoagulázy v patogenéze ochorení zatiaľ nie je jasná, ale predpokladá sa, že môže vytvárať fibrínový obal okolo stafylokokových abscesov, lokalizovať tak infekciu a chrániť stafylokoky pred fagocytózou.

DÔKAZ PRODUKCIE VIAZANEJ PLAZMAKOAGULÁZY:

Skľíčková metóda

- V 2 kvapkách sterilnej vody alebo fyziologického roztoku vytvorte suspenziu testovaného kmeňa
- pridajte kvapku králičej plazmy, výsledok odčítajte o 10-15 sekúnd.
- **Pozitívny výsledok – vytvorenie bielych zhlukov (vláken) fibrínu**
- Negatívny výsledok musí byť potvrdený skúmavkovou metódou



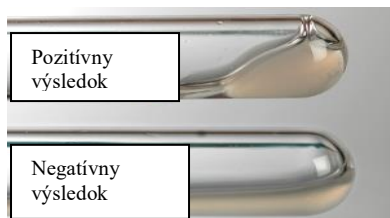
Obr. 7. Dôkaz viazanej plazmakoagulázy.

<http://memiserf.medmikro.ruhr-uni-bochum.de>

DÔKAZ PRODUKCIE VOĽNEJ PLAZMAKOAGULÁZY:

Skúmavková metóda

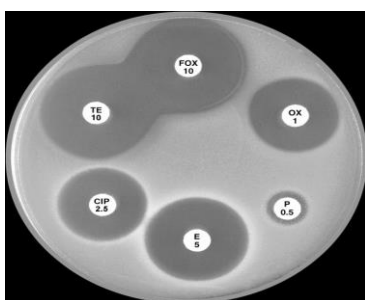
- kolónia testovaného kmeňa sa rozmieša v 0,5 ml králičej plazmy. Inkubuje sa 6 hodín pri 37°C, potom pri izbovej teplote 24 hodín.
- Odčítava sa za 1 hodinu, 2 hodiny a za 24 hodín
- **Pozitívny výsledok – vytvorenie koagula v skúmavke**
- Kvôli nožnej prítomnosti fibrinolyzínu v plazme môže byť koagulum počas inkubácie rozpustené, preto je výsledok testu potrebné odčítavať po 1hodine, 2 hodinách a po 24 hodinách



Obr. 8. Dôkaz voľnej plazmakoagulázy.

F. Dôkaz produkcie penicilinázy

U stafylokokov sa po zavedení penicilínu rýchlo vyvinula rezistencia, v súčasnosti je menej ako 10% kmeňov citlivých na penicilín. Rezistencia je zapríčinená produkciou penicilinázy (β -laktamáza špecifická pre penicilíny), ktorá hydrolyzuje β -laktámový kruh penicilínu. Boli vyvinuté semisyntetické penicilíny, ktoré sú odolné voči účinkom penicilinázy (metecilín, nafcilín, oxacilín, dicloxacilín).



Obr. 9. *S. aureus* rezistentný na penicilín - difúzna disková citlivosť.

http://web.med.unsw.edu.au/cdstest/gtf_cds_site/webpages/plates/plate3c.htm

U stafylokokov sa vyvinula rezistencia aj na tieto semisyntetické penicilíny. Rezistentné kmene *S. aureus* sú zodpovedné za vznik väčšiny nozokomiálnych infekcií, ako aj za vznik infekcií získaných v komunite. **MRSA** (metecilín rezistentný *S. aureus*) sú rezistentné na všetky β -laktámové antibiotiká (penicilíny, cefalosporíny, karbapenémy). Pri klasických testoch stanovenia citlivosti na antibiotiká sa rezistencia nemusí prejavíť u všetkých baktérií z populácie rezistentných *S. aureus* (tzv. heterogénna rezistencia). Preto sa na definitívnu identifikáciu rezistentných izolátov používa detekcia génu *MecA*, (kóduje penicilín viažúci proteín *PBP2A*), ktorý zodpovedá za vznik rezistencie. V terapii infekcií vyvolaných MRSA sa používajú: trimetoprim-sulfametoxazol, doxycyklín, klindamycín, linezolid (perorálna liečba), liekom voľby pre intravenóznou terapiu je vankomycín (akceptovateľné alternatívy sú daptomycín, tigecyklin, linezolid). V súčasnosti sú však už rozšírené kmene *S. aureus* rezistentné aj na vankomycín (VRSA). Sú známe dve formy rezistencie na vankomycín:

Nízky stupeň rezistencie je pozorovaný u kmeňov *S. aureus* s hrubou bunkovou stenou. Vankomycín je zadržaný v hmote bunkovej steny, nie je schopný preniknúť k cytoplazmatickej membráne a nemôže tak narušiť samotnú syntézu bunkovej steny.

Vysoký stupeň rezistencie je sprostredkovaný operónom génu *vanA*, ktorý je získaný od enterokokov rezistentných na vankomycín. Pri tomto type rezistencie dochádza k modifikácii peptidoglykánu a vankomycín sa nemôže naviazať na bakteriálnu bunku.

Kazuistika1

16-ročné dievča bolo prijaté do nemocnice pre tri dni trvajúcu faryngitídu a vaginitídu spojenú s vracaním a vodnatými hnačkami, horúčkou a hypotenziou. Bola prítomná erytematózna vyrážka difúzne po celom tele. Laboratórne testy preukázali acidózu, oligúriu, diseminovanú intravaskulárnu koaguláciu so závažnou trombocytopéniou. Na RTG snímkach hrudníka boli prítomné bilaterálne infiltrácie v pľúcach pripomínajúce tzv. „šokové pľúca“. Pacientka bola prijatá na jednotku intenzívnej starostlivosti, kde bola stabilizovaná, v priebehu nasledujúcich 18 dní sa jej stav postupne zlepšil. Na tretí deň sa u pacientky začala deskvamácia kože na tvári, hrudníku a končatinách, postupne sa začala odlupovať koža aj na dlaniach a chodidlách. Kultivačné vyšetrenia potvrdili prítomnosť *S. aureus* v hrdle a vo vagíne.

O aké ochorenie s najväčšou pravdepodobnosťou išlo?

Čím je vyvolané toto ochorenie?

Aká je patogenéza ochorenia?

Aké sú rizikové faktory vzniku daného ochorenia?

Kazuistika 2

U 34 zo 46 zákazníkov, ktorí večerali v miestnej reštaurácii v Taliansku, sa po 3 hodinách od konzumácie rôznych jedál objavili gastrointestinálne symptómy (nauzea, vracanie a hnačky). Pacienti boli ošetrovaní v nemocnici, v priebehu 24 hodín od upozornenia z nemocnice začali pracovníci verejného zdravotníctva vykonávať epidemiologické vyšetrenie. Retrospektívne boli zozbierané údaje od pacientov, boli odobraté vzorky z jedla a z prostredia reštaurácie. Pre rýchly nástup symptómov boli vzorky testované na prítomnosť toxigénnych baktérií a ich toxínov. Boli odobraté výtery z nazofaryngu od pracovníkov reštaurácie (čajačníci a kuchári). Z vyšetrovaných vzoriek jedla sa vysoké množstvá koaguláza-pozitívnych stafylokokov a stafylokokové enterotoxíny potvrdili len v smotanovom dezerte. Koaguláza-pozitívne stafylokoky boli tiež zistené vo vzorkách z povrchu kuchynského stola. Vo vzorkách od pracovníkov kuchyne bola u piatich osôb potvrdená prítomnosť *S. aureus*.

Čím je spôsobená otrava z jedla vyvolaná *S. aureus*?

Aký je inkubačný čas stafylokokovej enterotoxikózy?

Je prítomnosť *S. aureus* v jedle dôkazom stafylokokovej enterotoxikózy?

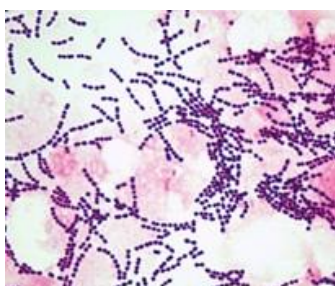
OTÁZKY

1. Ako sa farbja stafylokoky pri použití farbenia podľa Grama?
2. Aké je vzájomné usporiadanie stafylokokov viditeľné vo svetelnom mikroskope?
3. Vymenujte 5 druhov stafylokokov.
4. Aká pôda sa používa na kultiváciu stafylokokov?
5. Opíšte kolónie *S. aureus* na krvnom agare.
6. Opíšte kolónie *S. epidermidis* na krvnom agare.
7. Aká pôda sa používa na odlišenie biochemických vlastností *S. aureus* a *S. epidermidis*?
8. Ako je možné odlišiť stafylokoky od mikroskopicky podobných streptokokov?
9. Aký je diagnostický význam produkcie plazmakoagulázy u stafylokokov?
10. Opíšte princíp vzniku rezistencie stafylokokov na antibiotiká.
11. Definujte MRSA, VRSA.
12. Opíšte nástroje patogenity u stafylokokov.
13. Na ktorých miestach ľudského tela sú stafylokoky prítomné ako súčasť fyziologickej flóry?
14. Aké ochorenia sú najčastejšie vyvolávané stafylokokmi?
15. Vymenujte toxíny a enzýmy stafylokokov, opíšte ich funkciu.
17. Charakterizujte ochorenia vyvolané *S. aureus*.
18. Charakterizujte ochorenia vyvolané *S. epidermidis* a inými PK negatívnymi stafylokokmi.

Streptokoky a enterokoky

Rod: *Streptococcus*
druh: *pyogenes* (HSA)
agalactiae (HSB)
mutans (viridans)
salivarius
milleri
pneumoniae

Rod: *Enterococcus*
druh: *faecalis* (skupina D)
faecium



Obr. 10. Usporiadanie streptokokov do retiazok.

<http://www.vitanatural.pl/paciorkowiec-ropny-angina-paciorkowcowa-p%C5%82onica-szkarlatyna>

Charakteristika

Streptokoky tvoria veľmi rôznorodú skupinu baktérií. Niektoré tvoria súčasť fyziologickej flóry slizníc (viridujúce streptokoky v dutine ústnej a vagíne) iné sú primárne patogénne (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*) a niektoré sú podmienenčne patogénne (*S. mutans*, *S. milleri*). Sú to grampozitívne koky, v preparáte z bujónovej kultúry sú viditeľné retiazky, pretože sa delia v jednej rovine. *S. pneumoniae* vytvára diplokoky lancetovitého tvaru (plameň sviečky). Streptokoky sú nepohyblivé, neprodukujú katalázu (odlíšenie od stafylokokov). Neschopnosť streptokokov rásť na pôde s eskulínom sa používa na ich odlíšenie od enterokokov. Väčšina z nich je fakultatívne anaeróbna, niektoré vyžadujú pre svoj rast zvýšený obsah oxidu uhličitého (kapnofilné). Rastú na krvnom agare.

Klasifikácia streptokokov

1. Podľa hemolýzy

Podľa zmeny krvného agaru v okolí kolónie sa rozlišujú streptokoky na α -hemolytické (neúplná hemolýza, viridácia, čiastočná hemolýza), β -hemolytické (úplná hemolýza) a γ -hemolytické (bez hemolýzy). Pri α -hemolýze erytrocyty ostávajú neporušené, ale hemoglobín je oxidovaný peroxidom vodíka, ktorý produkujú baktérie, na zelený methemoglobín. To spôsobuje zmenu sfarbenia krvného agaru v okolí α -hemolytických kolónií – okolo kolónie sa vytvára široká zóna zelenkastej farby. S touto farebnou zmenou je spojený aj zaužívaný názov pre α -hemolytické streptokoky – viridujúce streptokoky (odvodené z latinského slova „*viridis*“ = zelený). Pri β -hemolýze

dochádza k úplnému rozpadu erytrocytov v krvnom agare. Lýza erytrocytov je spôsobená dvomi hemolyzínmi, O a S. Hemolyzín O je inaktivovaný v prítomnosti kyslíka, hemolyzín S je oxygén-stabilný. γ -hemolytické streptokoky nevytvárajú žiadnu zmenu krvného agaru v okolí kolónií, sú obvykle nepatogénne. Typy hemolýzy u medicínsky významných streptokokov sú uvedené v tabuľke 3 a na obrázku.



Obrázok 11. Typy hemolýzy na krvnom agare.

1. α -hemolýza, 2 – β -hemolýza, 3 – γ -hemolýza

<https://www.microbiologyinpictures.com/index.php>

2. Skupinová klasifikácia podľa Lancefieldovej

Beta hemolytické streptokoky produkujú skupinovo špecifické antigény bunkovej steny (označované písmenami A – W). Tieto antigény je možné identifikovať imunologickými testami, čo je dôležité pre rýchlu diagnostiku závažných streptokokových ochorení. Prehľad niektorých skupín streptokokov podľa Lancefieldovej klasifikácie je uvedený v tabuľke 3.

Patogénny potenciál a imunita

Streptococcus pyogenes

V základnej štruktúre bakteriálnej steny streptokokov sa okrem peptidoglykánu nachádzajú viaceré antigénne špecifické štruktúry:

- *S. pyogenes* obsahuje skupinovo špecifický polysacharid bakteriálnej steny (skupina A), ktorý je základom typizácie podľa Lancefieldovej (skupiny A-W).
- M proteín je hlavný typovo špecifický proteín *S. pyogenes*, je významným faktorom virulencie, bráni fagocytóze. M proteín blokuje väzbu C3b zložky komplementu, ktorá je dôležitým mediátorom pre fagocytózu. M proteíny sa rozdeľujú do dvoch tried, M I a M II. Kmene obsahujúce obe triedy M proteínov vyvolávajú hnisavé infekcie a glomerulonefritídu, reumatickú horúčku vyvolávajú len tie kmene, ktoré obsahujú M I proteín.
- Kyselina lipoteichoová a F proteín sú nástrojom adhérence baktérií, vytvárajú väzby s fibronectínom na povrchu hostiteľských buniek.

Tabuľka 3. Streptokoky – klasifikácia.

Druh	Typ hemolýzy	Skupina podľa Lancefieldovej	Používaný názov
<i>Streptococcus pyogenes</i>	β	A	B-hemolytický streptokok skupiny A (HSA)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	β, γ	B	B-hemolytický streptokok skupiny B (HSB)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subspecies <i>equisimilis</i>	β	C, G	---
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	α	---	Pneumokok
<i>Streptococcus bovis</i>	α, γ	D	Viridujúci streptokok
<i>Streptococcus mutans</i>	α, γ zriedkavo β	---	Viridujúci streptokok
<i>Streptococcus salivarius</i>	α, γ	---	Viridujúci streptokok
<i>Streptococcus mitis</i>	α	---	Viridujúci streptokok
<i>Streptococcus anginosus</i>	α, β, γ	A, C, F, G	Viridujúci streptokok

- Puzdro *S. pyogenes* je tvorené kyselinou hyalurónovou (neodlíšiteľnej od kyseliny hyalurónovej v spojivovom tkanive) a je slabo imunogénne, čo umožňuje baktériám uniknúť pred imunitnými mechanizmami. Puzdro chráni baktérie pred fagocytózou, preto opúzdrené kmene vyvolávajú obvykle závažné systémové ochorenia.

- kmene *S. pyogenes* majú na povrchu C5a peptidázu, ktorá inaktivuje C5a zložku komplementu, ktorá funguje ako chemoatraktant pre neutrofile a mononukleárne fagocyty.

Antigénne zloženie povrchových štruktúr streptokokov je podobné s povrchovými štruktúrami hladkej svaloviny, srdcového svalu, spojivového tkaniva a je základom imunopatologických následkov streptokokových infekcií spôsobených *S. pyogenes* na základe skrížene reagujúcich protilátok.

Toxíny a enzýmy *S. pyogenes*

- **streptolýzín O** je oxygén-labilný imunogénny toxín, ktorý spôsobuje lýzu erytrocytov, leukocytov a trombocytov. Vyvoláva tvorbu protilátok (antistreptolýzín O – ASLO). Prítomnosť týchto protilátok je diagnostickým znakom nedávnej infekcie spôsobenej *S. pyogenes*. Streptolýzín O je ireverzibilne inhibovaný cholesterolom v kožnom tukovom tkanive, preto sa u pacientov s kožnými infekciami vyvolanými *S. pyogenes* obvykle nevytvárajú protilátky (ASLO).
- **streptolýzín S** je oxygén stabilný, neimunogénny hemolýzín, spôsobuje lýzu erytrocytov, leukocytov a trombocytov. Stimuluje uvoľnenie obsahu lyzozómov po

pohltí baktérie, čo má za následok usmrtenie fagocytujúcich buniek. Streptolysin S je zodpovedný za vytváranie charakteristickej β -hemolýzy na krvnom agare.

- **DNA-ázy (A-D)** – enzýmy, depolymerizujú voľnú DNA v hnise, čím znižujú jeho viskozitu a napomáhajú ďalšiemu šíreniu streptokokov. Protilátky proti DNA-áze sú indikátorom kožných streptokokových infekcií a dôkazom streptokokovej etiológie u glomerulonefritídy
- **streptokináza (A, B)** – enzým, lyzuje krvné zrazeniny, zodpovedný za rýchle šírenie infekcie v tkanive.
- **erytrogénny toxín** – superantigén, produkován lyzogénnymi kmeňmi streptokokov. Ovplyvňuje makrofágy a pomocné T lymfocyty, zvyšuje uvoľňovanie zápalových cytokínov. Je príčinou vzniku závažných streptokokových ochorení (nekrotizujúca fasciitída, streptokokový syndróm toxického šoku), spôsobuje vznik vyrážky pri šarlachu pravdepodobne priamym poškodením kapilár alebo sekundárnou hypersenzitívnou reakciou.

Tabuľka 4. Streptokoky – ochorenia.

Skupina	Druh	Ochorenie
A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	faryngitída infekcie kože a mäkkých tkanív bakterémia reumatická horúčka glomerulonefritída
B	<i>Streptococcus agalactiae</i>	novorodenecké infekcie endometritída infekcie močových ciest infekcie rán bakterémia pneumónia infekcie kože a mäkkých tkanív
C	<i>Streptococcus dysgalactie</i>	faryngitída akútna glomerulonefritída
F, G	<i>Streptococcus anginosus</i>	abscesy

Antigénne zloženie niektorých povrchových štruktúr streptokokov je podobné s povrchovými štruktúrami hladkej svaloviny, srdcového svalu, spojivového tkaniva a je základom imunopatologických následkov streptokokových infekcií spôsobených *S. pyogenes* na základe skrížene reagujúcich protilátok.

Streptococcus agalactiae

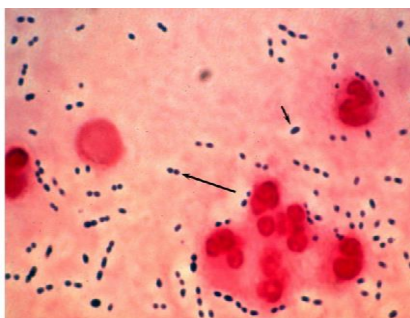
Kmene *S. agalactiae* sú charakterizované na základe nasledujúcich sérologických markerov:

- skupinovo špecifický polysacharid bakteriálnej bunkovej steny (skupina B), ktorý je základom typizácie podľa Lancefieldovej (skupiny A-W)
- deväť typovo špecifických púzdrových polysacharidov (Ia, Ib, II – VIII), púzdro je najdôležitejším faktorom virulencie, bráni fagocytóze, antikapsulárne protilátky vytvorené v tele pacienta sú protektívne, absencia protilátok u tehotnej ženy predstavuje zvýšené riziko vzniku infekcie u novorodenca.
- povrchové proteíny – najvýznamnejší je c antigén

Streptococcus pneumoniae

Kmene *S. pneumoniae* sú charakteristické produkciou nasledujúcich faktorov virulencie:

- komplexné polysacharidové púzdro (90 rôznych sérotypov), je výrazne imunogénne, antikapsulárne protiláky sú opsonizujúce a zlepšujú účinnosť fagocytózy
- C-polysacharid, imunologicky aktívny komponent bunkovej steny, nesúvisí so skupinovo špecifickými antigénmi Lancefielldovej klasifikácie, precipituje s globulí – novou frakciou séra (C-reaktívny proteín, CRP)



Obr. 12. *Streptococcus pneumoniae* – diplokoky.

- povrchové adhezíny sú proteíny, viažu sa na epiteliálne bunky orofaryngu
- IgA proteázy bránia väzbe baktérií na mucín a Fc fragment sekrečných IgA protilátok
- pneumolýzín je cytotoxín, viaže sa na cholesterol v hostiteľských bunkách a vytvára póry, čo vedie k zničeniu buniek riasinkového epitelu a fagocytov
- fosforylcholín sa nachádza v bunkovej stene *S. pneumoniae*, viaže sa na receptory endoteliálnych buniek, leukocytov, krvných doštičiek, na tkanivové bunky pľúc a meningov, baktérie následne prenikajú do buniek, kde sú chránené pred opsonizáciou a fagocytózou.

Tabuľka 5. Ochorenia vyvolané streptokokmi.

Skupina	Druh	Ochorenie
A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	faryngitída infekcie kože a mäkkých tkanív bakterémia reumatická horúčka glomerulonefritída
B	<i>Streptococcus agalactiae</i>	novorodenecké infekcie endometritída infekcie močových ciest infekcie rán bakterémia pneumónia infekcie kože a mäkkých tkanív
C	<i>Streptococcus dysgalactie</i>	faryngitída akútna glomerulonefritída
F, G	<i>Streptococcus anginosus</i>	abscesy

Ochorenia

S. pyogenes je primárne patogénny a spôsobuje tonzilitídu, faryngitídu, hnisavé infekcie – impetigo, pyodermiu, celulitídu, flegmóny. Kmene produkujúce erytrogénny toxín vyvolávajú šarlach a erysipel. Kmene produkujúce pyrogénny toxín a niektoré M typy vyvolávajú streptokokový toxický šokový syndróm (STSS). Niektoré kmene môžu spôsobiť neskoré (tzv. sterilné) následky streptokokových infekcií – reumatickú horúčku a akútnu glomerulonefritídu. Tieto ochorenia sú spôsobené imunopatologickými mechanizmami (produkciou autoprotilátok a ukladaním imunokomplexov Ag-Ab). Reumatická horúčka vzniká po ochorení dýchacích ciest, ktoré sú vyvolané *S. pyogenes*. Glomerulonefritída vzniká po ochorení dýchacích ciest a aj po kožnej infekcii spôsobenej *S. pyogenes*.



Obr. 13. Streptokoková faryngitída.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4a/Pos_strep.JPG

S. agalactiae spôsobuje novorodenecké meningitídy, neonatálne a puerperálne sepsy. Nález v biologickej vzorke z pošvy tehotnej ženy v poslednom trimestri gravidity je indikáciou pre pôrod pod clonou antibiotík, aj keď imunita matky zohráva významnejšiu úlohu ako samotná expozícia plodu baktérii.



Obr. 14. Šarlach.

<http://www.gponline.com/Clinical/article/1087062/paediatric-medicine-management-scarlet-fever/>

S. pneumoniae - neopúzdrené kmene sú príčinou otitíd a neinváznych ochorení horných ciest dýchacích. Opúzdrené kmene – virulentnejšie – spôsobujú invázne ochorenia súvisiace s bakterémiou – meningitída. Krupózna pneumónia vzniká obvykle z endogénnych mikroorganizmov ako superinfekcia vírusového ochorenia. Bakteriálna pneumónia je predisponujúcim faktorom vzniku vírusovej superinfekcie (napr. chrípkovým vírusom). *S. pneumoniae* – niektoré kmene vytvárajú puzdro, ktoré je nástrojom virulencie, je polysacharidové a je to tzv. T- nezávislý antigén. Vyskytuje sa v 96 antigénnych typoch, medzi ktorými nemusí existovať skrížená imunita. Prítomnosť cholínu v bunkovej stene *S. pneumoniae* je významným regulačným prvkom pri delení bunky. Teichoová kyselina existuje v 2 formách – povrchová (C substantia) a viazaná na plazmatickú membránu. (C substantia precipituje globulínovú frakciu ľudského séra prítomnú v malom množstve u zdravých, tzv. C-reaktívny proteín, CRP). Je to imunologicky pôsobiaci proteín schopný väzby na povrchové štruktúry bakteriálnych a hubových buniek. Jeho syntéza výrazne stúpa hlavne pri bakteriálnych infekciách.

Tabuľka 6. Streptokokové ochorenia – klinické prejavy.

Vyvolávateľ	ochorenie
<i>S. pyogenes</i>	<p>HNISAVÉ INFEKcie</p> <p>Faryngitída: začervenanie faryngu, prítomnosť exudátu, krčná lymfadenopatia</p> <p>Šarlach: difúzny erytém na koži, ktorý začína na hrudníku a šíri sa na končatiny, malinový jazyk</p> <p>Pyoderma: lokalizovaná infekcia kože s vezikulami a pustulami, bez príznakov systémovej infekcie</p> <p>Erysipel: lokalizovaná bolestivá infekcia kože so zápalom, príznaky systémoveho ochorenia</p> <p>Celulitída: postihnutie kože a podkožného tkaniva</p> <p>Nekrotizujúca fasciitída: infekcia hlbokých vrstiev kože, deštrukcia svalov a tukového tkaniva</p> <p>Streptokokový syndróm toxického šoku: multiorgánové systémove ochorenie, bakterémia, fasciitída</p> <p>Iné: infekcie rôznych tkanív, sepsa, zápal lymfatických uzlín, pneumónia</p> <p>NEHNISAVÉ INFEKcie</p> <p>Reumatická horúčka: zápalové zmeny srdca (pankarditída), artralgia, artritída, zápalové postihnutie ciev a podkožných tkanív</p> <p>Akútna glomerulonefritída: akútny zápal glomerulov spojený s edémom, hypertenziou, hematúriou a proteínúriou</p>
<i>S. agalactiae</i>	<p>Novorodenecké ochorenia: so skorým nástupom (do 7 dní po pôrode): pneumónia, meningitída, sepsa - s neskorým nástupom (viac ako 7 dní po pôrode): bakterémia, meningitída</p> <p>Infekcie u tehotných žien: popôrodná endometritída, infekcie rán a močových ciest, bakterémia</p> <p>Infekcie u ostatných dospelých: bakterémia, pneumónia, infekcie kostí, kĺbov, kože a mäkkých tkanív</p>
Ostatné β-hemolytické streptokoky	<p>Abscesy hlbokých tkanív: (skupina <i>S. anginosus</i>)</p> <p>Faryngitída: (<i>S. dysgalactiae</i>)</p>
<i>S. pneumoniae</i>	<p>Pneumónia: akútny nástup, pretrvávajúca horúčka, zimnica, produktívny kašeľ s prímiesou krvi, lobárna lokalizácia</p> <p>Sínusitída: deti aj dospelí, infiltrácie v paranazálnych dutinách</p> <p>Zápal stredného ucha: primárne u detí</p> <p>Meningitída: postihnutie mozgových blán s bolesťou hlavy, horúčkou a sepsou, vysoká mortalita, závažné neurologické postihnutia</p> <p>Bakterémia: častá u pacientov s meningitídou</p>
Ostatné viridujúce streptokoky	<p>Abscesy hlbokých tkanív</p> <p>Septikémia u neutropenických pacientov (skupina <i>S. mitis</i>)</p> <p>Subakútna endokarditída (skupiny <i>S. mitis</i> a <i>S. salivarius</i>)</p> <p>Zubný kaz: (skupina <i>S. mutans</i>)</p> <p>Maligne ochorenia GIT-u: (skupina <i>S. bovis</i>, <i>S. gallolyticus</i>)</p> <p>Meningitída: skupina <i>S. mitis</i>, <i>S. suis</i>, <i>S. gallolyticus</i>)</p>

S. mutans, *S. milleri* – sú súčasťou fyziologickej flóry ústnej dutiny. Sú podmienenčne patogénne. Dávajú sa do súvislosti so vznikom zubného kazu. U pacientov po stomatochirurgickom zákroku alebo pri prechodnej bakterémii môžu vyvolať subakútnu endokarditídu, artritídu u pacientov s postihnutým endokardom, chlopňami, po operácii kĺbu.

Enterokoky

Enterokoky boli v minulosti klasifikované ako streptokoky zo skupiny D podľa Lancfieldovej, v súčasnosti však tvoria samostatnú skupinu, rod *Enterococcus*. Z medicínskeho hľadiska sú najvýznamnejšími predstaviteľmi *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Podobne ako streptokoky, aj enterokoky sú grampozitívne koky, usporiadané do retiazok alebo do dvojíc. Kultivujú sa na krvnom agare, vytvárajú veľké kolónie (3-4 mm), ktoré sú obvykle nehemolytické, zriedkavo môžu byť aj β -hemolytické. Enterokoky sú prítomné v čreve ľudí aj zvierat, vyvolávajú infekcie u pacientov s močovými a intravaskulárnymi katétami a u osôb liečených širokospektrálnymi antibiotikami. Enterokoky patria medzi najčastejších pôvodcov nozokomiálnych nákaz. Prehľad infekcií vyvolaných enterokokmi je uvedený v tabuľke 7. Enterokoky rastú dobre na bežných kultivačných médiách, neprodukujú katalázu, sú rezistentné na optochín, nerozpustné v žlči. Enterokoky rastú na eskulínovej pôde, na ktorej vytvárajú tmavý precipitát, čím sa odlišujú od streptokokov.

Tabuľka 7. Enterokoky – infekcie, klinické prejavy.

Ochorenie	Klinické prejavy
Infekcie močových ciest	<ul style="list-style-type: none"> - najmä hospitalizovaní s močovými katétami a pacienti liečení širokospektrálnymi cefalosporínovými antibiotikami - dysúria - pyúria
Peritonitída	<ul style="list-style-type: none"> - po chirurgickom výkone alebo traume v brušnej dutine - akútny nástup - tvrdá brušná stena - pozitívny výsledok hemokultivačného vyšetrenia
Bakterémia	<ul style="list-style-type: none"> - spojená s lokálnou infekciou alebo s endokarditídou
Endokarditída	<ul style="list-style-type: none"> - postihnutie endotelu, chlopní - spojená s perzistujúcou bakterémiou - akútny alebo chronický priebeh

Laboratórna diagnostika a liečba streptokokových infekcií.

V diagnostike sa používa mikroskopia a kultivačný dôkaz. Streptokoky dobre rastú na krvnom agare. Dôležité je skupinové určenie streptokokov pomocou laboratórnych testov. Neskoré následky streptokokových infekcií sa stanovujú sérologickými metódami. Laboratórna diagnostika streptokokov je podrobne opísaná v časti „Úlohy na praktické cvičenia“. *S. pyogenes* si udržiava citlivosť na penicilín. *S. agalactiae* je

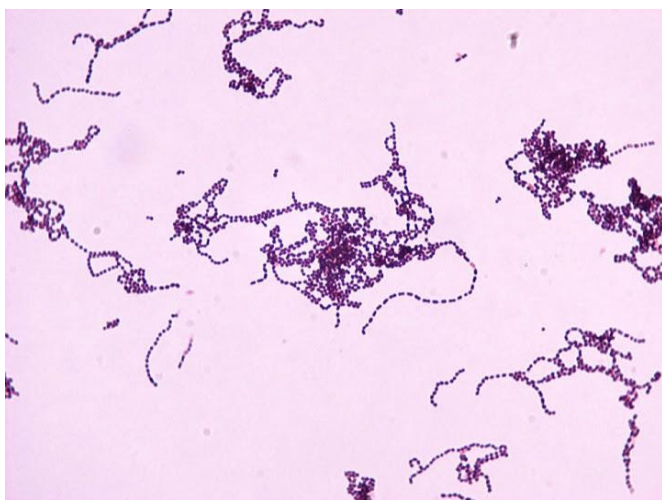
obvykle citlivý na penicilín. Rezistencia na penicilínové preparáty spôsobená alteráciou PBP – proteínu viažúceho penicilín (angl. penicillin binding protein) stúpa u kmeňov *S. pneumoniae* pravdepodobne aj v súvislosti s nadmerným používaním niektorých antibiotík. Na výber správneho antibiotika na liečbu infekcií vyvolaných *S. pneumoniae* je potrebný test na stanovenie citlivosti na antibiotiká. Enterokoky sú rezistentné na mnohé antibiotiká, účinné sú vankomycin a aminoglykozidy vo vyšších koncentráciách. U nozokomiálnych kmeňov sa vyskytuje klinicky závažná rezistencia na vankomycín prenosná plazmidom.

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopia streptokokov

Pripravte fixovaný preparát z kultúr *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, zafarbte podľa Grama, mikroskopujte.

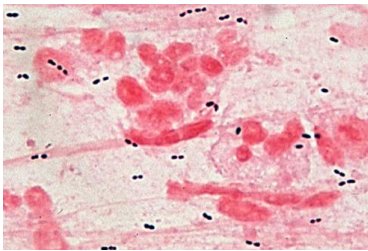
Streptococcus pyogenes je **grampozitívny kok** s priemerom 1-2 μ m, v preparátoch z klinických vzoriek sa vytvárajú krátke **retiazky**, v preparátoch pripravených z čistých kultúr rastúcich v tekutých médiách sú viditeľné typické dlhé retiazky. Streptokoky sa zvyčajne nenachádzajú v preparátoch pripravených zo sterov z neinfikovanej kože, takže nález grampozitívnych kokov usporiadaných do retiazok alebo do dvojíc spolu s leukocytmi v biologickej vzorke odobratej z infikovanej kože je významný. Streptokoky sú súčasťou normálnej mikrofóry v orofaryngu, preto mikroskopický nález streptokokov vo vzorkách z faryngu nie je signifikantný.



Obr. 15. *Streptococcus pyogenes* - farbenie podľa Grama

<https://picasaweb.google.com/MCCMicrobiology205/Bacteria>

Streptococcus pneumoniae sú opudzrené, **grampozitívne koky**, ich veľkosť je v priemere 0,5 - 1,2 μ m, sú oválne a obvykle **usporiadané do dvojíc** (dvojice pripomínajú plamene sviečok, obrátené plochou stranou k sebe). Bunky sú obklopené nezafarbeným puzdrom. Staršie bunky sa ľahko odfarbujú a môžu sa farbiť gramnegatívne. Morfológia *S. pneumonie* môže byť zmenená vo vzorkách od pacientov liečených antibiotikami.



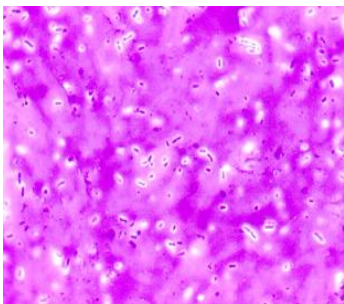
Obr. 16. *Streptococcus pneumoniae*- farbenie podľa Grama.

http://www.oerafrica.org/ftpfolder/website%20materials/health/cases_in_microbiology/content/pneumo.html

Dôkaz puzdra *S. pneumonie* – farbenie Burriho tušovou metódou

Virulentné kmene *S. pneumoniae* vytvárajú komplexné polysacharidové puzdro. Puzdrové polysacharidy sa využívajú v sérologickej klasifikácii kmeňov. Podľa Svetovej zdravotníckej organizácie je v súčasnosti známych okolo 90 sérotypov pneumokov (<https://www.who.int/biologicals/vaccines/pneumococcal/en/>).

Na mikroskopický dôkaz puzdra je možné použiť **Burriho tušovú metódu**. Na tmavom pozadí sa puzdrá baktérií javia ako bezfarebné útvary. Vo vnútri nezafarbeného puzdra je možné vidieť kontrastne dofarbené baktérie.

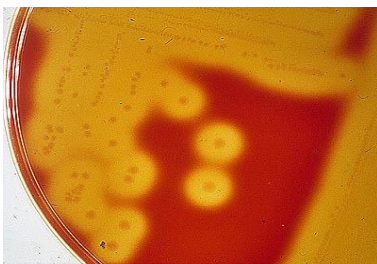


Obr. 17. Burriho tušová metóda. Bakteriálne puzdra sú nezafarbené (biele).

B. Kultivácia streptokokov

Kultivácia na krvnom agare – vzhľad kolónií, hemolýza (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *S. salivarius*).

Streptokoky rastú dobre na krvnom agare, kde vytvárajú rôzne typy hemolýzy. Na základe hemolýzy ich rozdeľujeme na α -hemolytické, β -hemolytické a γ -hemolytické. *S. pyogenes* (β -hemolytický, skupina A podľa Lancefieldovej, HSA) na krvnom agare po 24-hodinovej kultivácii vytvára malé (1-2 mm) bledé kolónie obklopené širokou zónou β -hemolýzy (úplná hemolýza).



Obr. 18. *S. pyogenes* na krvnom agare.

http://textbookofbacteriology.net/pathogenesis_4.html

S. agalactiae (β -hemolytický, skupina B podľa Lancefieldovej, HSB) kolónie na krvnom sú väčšie (2-3 mm), obklopené úzkou zónou β -hemolýzy (úplná hemolýza). Niektoré kmene (1-2%) môžu byť nehemolytické.



Obr. 19. *S. agalactiae* na krvnom agare.

<http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/streptococcus%20agalactiae%20microscopy.html#>

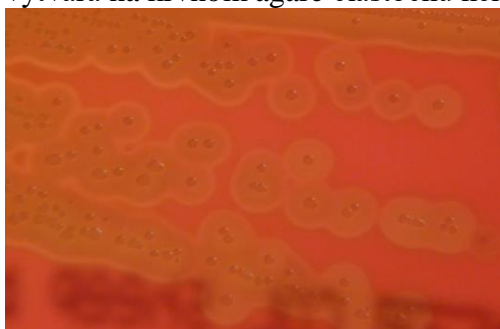
S. pneumoniae vytvára na krvnom agare veľmi drobné priesvitné kolónie obklopené úzkou zónou neúplnej hemolýzy - α -hemolýza (viridácia). Kolónie môžu byť v strede preliачené s centrálnou vyvýšeninou.



Obr. 20. *S. pneumoniae* na krvnom agare.

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

S. salivarius rastie na krvnom agare v malých kolóniách, a rovnako ako *S. pneumoniae* vytvára na krvnom agare čiastočnú hemolýzu (α -hemolýzu, viridáciu).



Obr. 21. *S. salivarius* na krvnom agare.

C. Fyziologické vlastnosti streptokokov

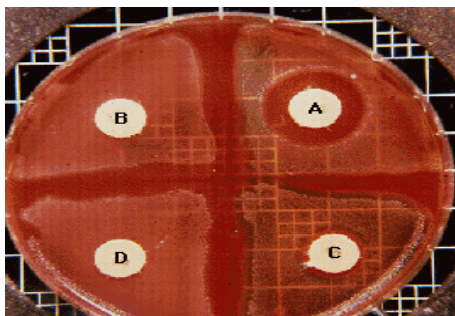
Identifikácia β -hemolytických streptokokov zo skupiny A (*S. pyogenes*).

BACITRACÍNOVÝ TEST

Bacitracín je antibiotikum produkované bakteriálnym druhom *Bacillus licheniformis*, prípadne *Bacillus subtilis*. Na bacitracín sú citlivé mnohé grampozitívne baktérie.

Antibiotikum interferuje so syntézou ich bunkovej steny – inhibuje syntézu peptidoglykánu, základnej štruktúrnej zložky bunkovej steny baktérií v reakcii vyžadujúcej spoluúčasť zložiek cytoplazmatickej membrány, ktoré sa podieľajú na syntéze bunkovej steny.

Jedným zo spôsobov, ako odlišiť β -hemolytického streptokoka zo skupiny A (HSA) od ostatných β -hemolytických streptokokov je na základe určenia ich rozdielnej citlivosti na bacitracín. *Streptococcus pyogenes* (skupina A, β -hemolytický) je citlivý na bacitracín a nerastie okolo disku obsahujúceho antibiotikum, čo sa prejaví ako viditeľná zóna inhibície rastu. Ostatné β -hemolytické streptokoky nie sú citlivé na bacitracín a rastú v blízkosti disku obsahujúceho bacitracín (okolo diskov s bacitracínom sa nevytvorí zóna inhibície rastu).



Obr. 22. Bacitracínový test. Sérologické skupiny streptokokov A-D. Zóna inhibície rastu okolo bacitracínového disku je viditeľná vpravo hore u hemolytického streptokoka zo skupiny A (*S. pyogenes*).

http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Microbes/ENTERO.html

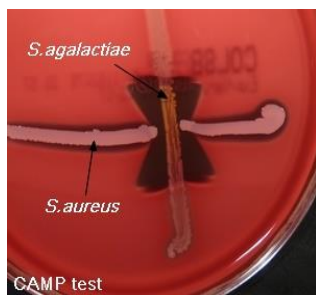
Identifikácia β -hemolytického streptokoka zo skupiny B (*S. agalactiae*)

CAMP TEST

S. agalactiae (β -hemolytický streptokok skupiny B, HSB) je možné identifikovať na základe β -hemolýzy, hydrolýzy hipurátu a CAMP testu. CAMP je skratka odvodená od mien štyroch výskumníkov, ktorí popísali tento test (Christie, Atkins, Munch-Petersen). Streptokok skupiny B tvorí faktor (CAMP faktor), ktorý zosilňuje β -hemolýzu indikátorového kmeňa *Staphylococcus aureus*. Na krvný agar sa naočkuje laboratórny kmeň *S. aureus* a kolmo na stafylokokovú čiaru sa nočkuje vyšetrovaný kmeň β -hemolytického streptokoka (inkubácia 24 hodín). *Streptococcus agalactiae* (HSB), ktorý vytvára CAMP faktor, zosilňuje hemolýzu erytrocytov ovplyvnených C sfingomyelinázou (β -lyzínom) produkovanou *S. aureus*. Zosilnenie hemolýzy sa prejaví typickým **mašličkovým tvarom (tvar motýlich krídel)**. *Streptococcus pyogenes* (HSA) CAMP faktor nevytvára, preto nedôjde k zosilneniu hemolýzy.

CAMP test výsledky:

- pozitívne, zosilnenie hemolýzy v tvare motýlich kríde – *Streptococcus agalactiae*
- negatívne – *Streptococcus pyogenes*



Obr. 23. CAMP test. Pozitívny výsledok - motýľovité zosilnenie β -hemolýzy.

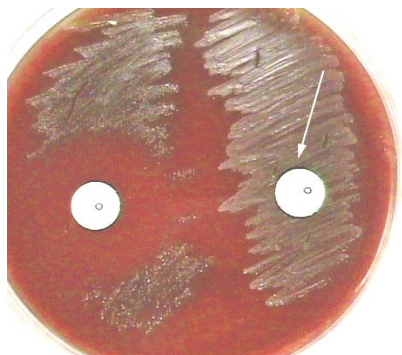
<http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/streptococcus%20agalactiae%20microscopy.html#>

Identifikácia *S. pneumoniae*

V praxi je potrebné odlíšiť α -hemolytické streptokoky, nachádzajúce sa v orofaryngu ako súčasť fyziologickej mikroflóry, od *Streptococcus pneumoniae*, ktorý je tiež α -hemolytický.

OPTOCHÍNOVÝ TEST

Optochín (etylhydrocupreín hydrochlorid) je chinínový derivát, ktorý má detergentné účinky a zapríčiňuje selektívnu lýzu pneumokokov. Na krvný agar naočkujeme vyšetrované kmene α -hemolytických streptokokov a pridáme sterilný disk impregnovaný optochínom. Po 18 hodinách kultivácie hodnotíme veľkosť inhibície rastu. Ak sa vytvorí zóna zábrany rastu s priemerom aspoň 16 mm, testovaný kmeň je možné identifikovať ako *S. pneumoniae*. Ak sa zóna zábrany rastu nevytvorí, výsledok testu je negatívny (testovaný kmeň je α -hemolytický streptokok iný ako *S. pneumoniae*).



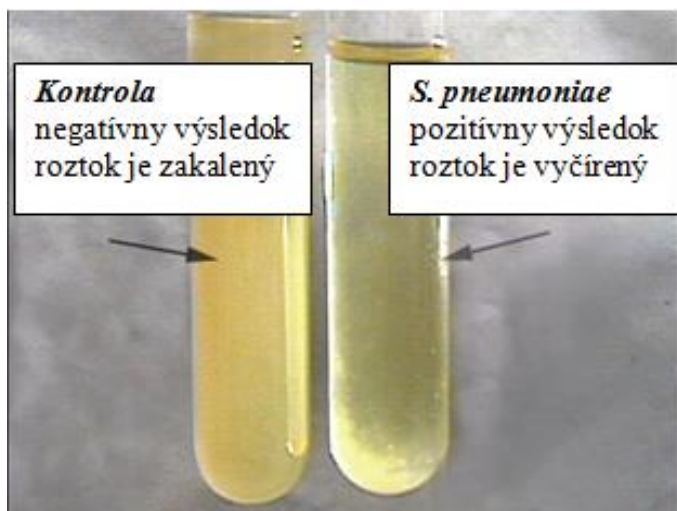
Obr.24. Optochínový test. *S. pneumoniae* – pozitívny výsledok sa prejaví zónou inhibície rastu (vľavo). Vpravo negatívny výsledok.

<http://www.mesacc.edu/~johnson/labtools/Dbiochem/bile1.jpg>

TEST ROZPUSTNOSTI V ŽLČI

Test rozpustnosti v žlči je založený na princípe, že pôsobením 10%-ého roztoku deoxycholátu sodného dochádza k lýze buniek kmeňa *Streptococcus pneumoniae*, zatiaľ čo ostatné α -hemolytické streptokoky sú v tomto roztoku nerozpustné. Deoxycholát sodný je soľ purifikovanej žlčovej kyseliny. Je rozpustný vo vode a jeho 10%-ný roztok lyzuje bunky pneumokokov, pretože mikroorganizmy rozpustné v žlči obsahujú autolytickú amidázu, ktorá po aktivácii žľčovými soľami rozštiepi väzbu medzi alanínom a kyselinou muramovou v bunkovej stene. Test rozpustnosti v žlči sa môže vykonávať pridaním roztoku deoxycholátu sodného do suspenzie buniek v

skúmavke alebo priamo na kolónie na krvnom agare. Test je pozitívny, ak je obsah v skúmavke s testovaným kmeňom priehľadný alebo menej zakalený (došlo k lýze baktérii) ako obsah kontrolnej skúmavky a testovaný mikroorganizmus je tak možné identifikovať ako *S. pneumoniae*. Výsledok je negatívny, ak zákal v testovacej skúmavke ostane rovnaký ako v kontrolnej skúmavke.



Obr. 25. Test rozpustnosti v žli.

<http://www.mesacc.edu/~johnson/labtools/Dbiochem/bile1.jpg>

D. Sérologický dôkaz – ASLO, CRP

ANTISTREPTOLYZÍN O (ASLO)

Streptolýzín O (SLO) je hemolýzín, extracelulárny faktor virulencie, ktorý produkuje *Streptococcus pyogenes*. Streptolýzín O je oxygénlabilný a toxický pre leukocyty a monocyty. Protilátky proti streptolýzínu O sa označujú ako antistreptolýzín O (ASLO). Stanovenie hladiny ASLO v sére pacienta slúži k retrospektívnej diagnóze nedávno prebehnutej streptokokovej infekcie alebo pri podozrení na neskoré následky po streptokokovej infekcii. Hladina protilátok vrcholí medzi 4 a 6 týždňom ochorenia a potom klesá, ale môže zostať v detekčných úrovniach počas doby niekoľkých mesiacov po skončení infekcie.

Indikácie stanovenia hladiny ASLO:

- dôkaz prebiehajúcej infekcie
- dôkaz už prekonaných streptokokových infekcií s následným rozvojom aseptických ochorení (reumatická horúčka, chorea minor, akútna glomerulonefritída)
- rozlíšenie reumatickej horúčky a reumatoidnej artritídy pri bolestiach kĺbov

Priemerné odnoty ASLO u zdravých dospelých ľudí nepresahujú 200 IU/ml. **Hladiny ASLO sa stanovujú pomocou sérologických vyšetrovacích metód (napr. latexová aglutinácia, ELISA).** O patologickej hladine ASLO sa možno vyjadriť len po vyšetrení párových sér odobratých s vhodným časovým odstupom.

C-REAKTÍVNY PROTEÍN (CRP)

CRP bol prvýkrát identifikovaný v sérach pacientov ako substancia reagujúca s C-polysacharidom v bunkovej stene pneumokokov (odtiaľ pochádza pomenovanie C-

reaktívny proteín). CRP patrí do skupiny tzv. pentraxínov. Hlavným biologickým účinkom CRP je jeho schopnosť viazať fosfocholín a prostredníctvom tejto väzby rozpoznávať cudzie patogény a fosfolipidové súčasti poškodených buniek. Z imunologického hľadiska **pôsobí CRP ako opsonín**. Po naviazaní sa na cudzorodé častice a fagocytujúce bunky aktivuje komplementový systém klasickou cestou. Interakciou s humorálnym aj bunkovým efektorovým systémom zápalu sa spúšťa odstraňovanie cieľových buniek. CRP-ligandové komplexy sa priamo viažu aj na neutrofile, makrofágy a ostatné fagocytujúce bunky a stimulujú zápalovú odpoveď, ako aj tvorbu cytokínov. **CRP je zložkou vrodenej imunitnej odpovede, je syntetizovaný v pečeni.**

Zvýšené hladiny CRP spoľahlivo signalizujú, že v organizme prebieha zápalový proces, ale zistenie vyvolávajúcej príčiny zápalu si vyžaduje ďalšie klinické a paraklinické vyšetrenia, ktoré definitívne upresnia základnú diagnózu. V praxi sa diagnostický potenciál CRP využíva najmä pri rozlíšení pôvodcu infekcie. Zo všetkých mikroorganizmov najmohutnejšie stimulujú tvorbu CRP baktérie, miernejší nárast vyvolávajú mykobaktérie a plesne. Vírusové infekcie spôsobia len zriedkakedy významnú zmenu v koncentrácii CRP. CRP má lepšiu výpovednú hodnotu pre bakteriálnu infekciu ako ostatné pozitívne parametre akútneho zápalu, najmä v praxi široko používaná rýchlosť sedimentácie erytrocytov (FW) a počet leukocytov. C-reaktívny proteín stanovujeme v sére pacienta. Je zápalovým parametrom, hodnoty vyššie ako 10 mg/l hovoria o prítomnosti dlhšie prebiehajúceho zápalu v organizme. Na stanovenie CRP sa používajú rôzne sérologické metódy (ELISA, imunoturbidimetria, rýchla imunodifúzia, Ring-test).

Kazuistika

Novorodený chlapec, spontánny pôrod v termíne, váha 3600 gramov, počas prvého týždňa boli všetky fyzikálne vyšetrenia v norme. V druhom týždni života dieťa začalo prijímať potravu nepravidelne, na 13. deň bolo hospitalizované pre generalizované záchvaty. Bola indikovaná lumbálna punkcia, odoberatý cerebrospinálny mok bol zakalený. Mikrobiologické vyšetrenie potvrdilo prítomnosť *Streptococcus agalactiae*. Aj napriek okamžitej liečbe sa u dieťaťa vyvinul hydrocefalus vyžadujúci zavedenie atrioventrikulárneho shuntu. Dieťa bolo prepustené z nemocnice po troch mesiacoch s retardáciou psychomotorického vývoja.

Do ktorej skupiny β -hemolytických streptokokov zaraďujeme *S. agalactiae*?

Akú infekciu v opísanej kazuistike vyvolal *S. agalactiae*?

Akým spôsobom mohlo dôjsť k infikovaniu novorodenca?

Akým testom je možné v rámci mikrobiologickej diagnostiky potvrdiť prítomnosť

S. agalactiae v biologickej vzorke?

Kazuistika

U 40-ročného muža s hepatitídou C, hypertenziou a ochorením obličiek sa počas hemodialýzy objavila triaška, zimnica a horúčka. Dva mesiace predtým bol pacient liečený ampicilínom, levofloxacinom a gentamicínom pre endokarditídu vyvolanú hemolytickým streptokokom zo skupiny B. Kultivačné vyšetrenie vzorky odobratej počas hemodialýzy preukázalo prítomnosť *Enterococcus faecalis* rezistentný na levofloxacin a gentamicin. Echokardiografické vyšetrenie srdca preukázalo prítomnosť vegetácií na trikuspidálnej a mitrálnej chlopni. Po troch týždňoch sa stav pacienta zhoršil, bola indikovaná liečba ampicilínom a streptomycínom. 25 dní po hospitalizácii pacient podstúpil chirurgický zákrok na náhradu srdcových chlopní. Antibiotická liečba pokračovala ďalších 6 týždňov.

Aké predisponujúce faktory pre vznik enterokokovej meningitídy sa vyskytli u pacienta v kazuistike?

Čo pravdepodobne spôsobilo komplikácie v liečbe pacienta?

Aké ďalšie infekcie vyvolávajú enterokoky?

OTÁZKY

1. Opíšte usporiadanie streptokokov viditeľné vo svetelnom mikroskope.
2. Aké sú základné vlastnosti streptokokov?
3. Vymenujte hlavné nástroje patogenity a virulencie u *S. pyogenes*.
4. Aké ochorenia vyvoláva *S. pyogenes*?
5. Opíšte mechanizmus vzniku sterilných následkov streptokokových infekcií.
6. Aké ochorenia vyvoláva *S. agalactiae*?
7. Aké ochorenia vyvoláva *S. pneumoniae*?
8. Aké ochorenia vyvolávajú enterokoky?
9. Akým spôsobom je možné dokázať púzdru *S. pneumoniae*?
10. Opíšte kolónie streptokokov na krvnom agare.
11. Vysvetlite princíp bacitracínového testu.
12. Vysvetlite princíp CAMP testu.
13. Vysvetlite princíp optochínového testu.
14. Vysvetlite princíp testu rozpustnosti v žlči.
15. Aké sú indikácie pre vyšetrenie antistreptolýzínu-O?
16. Aký je význam stanovenia C-reaktívneho proteínu?

1.2 Gramnegatívne koky

Neissérie

Rod: *Neisseria*

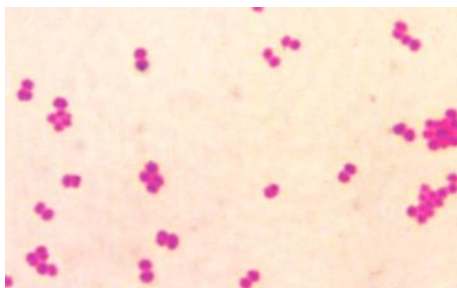
druh: *meningitidis*

gonorrhoeae

ostatné nepatogénne neissérie

Charakteristika

Nepatogénne neissérie sú bežne prítomné ako fyziologická flóra na slizniciach horných dýchacích ciest. Dva druhy neisserií sú patogénne pre ľudí: *N. meningitidis* - jedna z najvirulentnejších a najrýchlejšie zabíjajúcich baktérií a *N. gonorrhoeae*, vyvolávajúca sexuálne prenosné ochorenie – kvapavku. Neissérie sú gramnegatívne koky vyskytujúce sa vo dvojiciach v podobe dvoch kávových zŕn (prilahlé strany sú konkávne). Sú striktné aeróbne, oxidáza pozitívne, kultivačne náročné a veľmi citlivé na vyschnutie a na chlad. Ich rast je inhibovaný voľnými masnými kyselinami. **Pri podozrení na neisseriovú infekciu sa nesmie biologická vzorka skladovať v chladničke.**

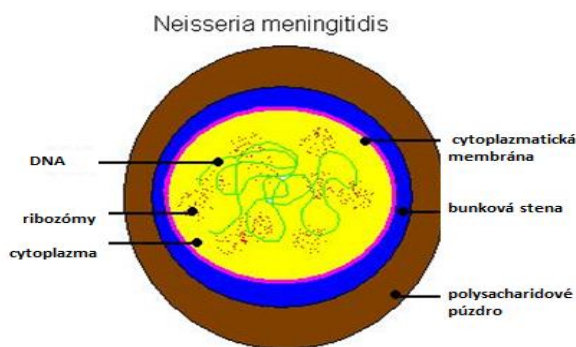


Obr. 26. Neissérie – farbenie podľa Grama

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2d/Neisseria_meningitidis_%28cropped%29.png

Patogénny potenciál a imunita

N. gonorrhoeae (gonokok) sa vyskytuje v 4 typoch podľa prítomnosti fimbrií. Fimbrie sú podstatné pre virulenciu a sú antigénne odlišné u rôznych kmeňov. Kmene bez fimbrií sú avirulentné. Bunková stena obsahuje viacero antigénnych štruktúr. Proteín I tvorí najväčšiu časť OMP – proteínov vonkajšej membrány (outer membrane protein) a je antigénny. Lipopolysacharid (LPS) s endotoxínovými vlastnosťami je zodpovedný za časť tkanivového poškodenia. *N. gonorrhoeae* produkuje cytotoxické substancie poškadzujúce epiteliálne bunky vajcovodov a extracelulárne proteázy viažúce sa na IgA1 a blokujúce ich aktivitu. Lokálna imunita je nedostatočná vzhľadom na možnosť antigénnej diverzity fimbrií a opakované infekcie sú časté. Osoby s defektom tvorby IgG a komplementu majú zvýšené riziko vzniku systémového ochorenia. V patogenéze infekcií vyvolaných *N. gonorrhoeae* dochádza k stimulácii lokálnej imunity, nekomplikované infekcie aktivujú komplement prostredníctvom klasickej cesty, pri diseminovaných infekciách sa komplement aktivuje alternatívnou cestou. Lokálne protilátky sú špecifické proti antigénom fimbrií daného kmeňa a preto môže dôjsť k reinfekcii inými antigénnymi kmeňmi.



Obr. 27. Štruktúra *N. meningitidis*.

<http://dg743.wordpress.com/2008/02/17/structure-and-anatomy/>

N. meningitidis (meningokok) vytvára opúzdrené kmene. Polysacharidové púzdro je základom existencie viacerých sérotypov (A, B, C, Y, W135....). Je nástrojom virulencie, má antifagocytárne účinky. Pre kolonizáciu slizníc horných dýchacích ciest sú dôležité fimbrie. Lipopolysacharidový endotoxín je extrémne toxický, spôsobuje poruchu syntézy chemotaktických faktorov v polymorfonukleárnych leukocytoch. Biologické účinky endotoxínu sa prejavujú veľmi rýchlo v priebehu infekcie a často sú príčinou perakútneho priebehu. Antikapsulárne protilátky proti *N. meningitidis* sú baktericídne, protektívne a typovo špecifické. Proti typu B sú neprotektívne. Polysacharidové púzdro je T-nezávislý antigén, podmieňujúci vekové rozdelenie infikovaných (výskyt ochorení predovšetkým u detí vekovej skupiny od 6 mesiacov do 2. roku života) a tvorbu IgM protilátok bez stimulácie bunkovej pamäte. Imunita u dospelých je spôsobená skrížene reagujúcimi protilátkami a asymptomatickou kolonizáciou.

Nepatogénne neisserie sú komenzálmi horných dýchacích ciest a nevyvolávajú ochorenia.

Ochorenia

Symptómy **kvapavky** sa odlišujú u mužov a žien. U mužov je prítomný hojný uretrálny exudát, u žien je priebeh často takmer asymptomatický. Infekcia môže postupovať ascendentne (endometritída, salpingitída, pelvická infekcia, perihepatitída, absces). Generalizovaná infekcia sa prejaví na koži, vnútorných orgánoch, typická je sťahovavá monoartritída veľkých kĺbov. Pri pôrode infikovanými pôrodnými cestami môže vzniknúť ophthalmia neonatorum. Chemoprofylaxia kvapavky je neúčinná, pre novorodencov sa profylakticky používa očná aplikácia 1% AgNO₃ prípadne antibiotických očných kvapiek.



Obr. 28. Gonokoková ophthalmia neonatorum.

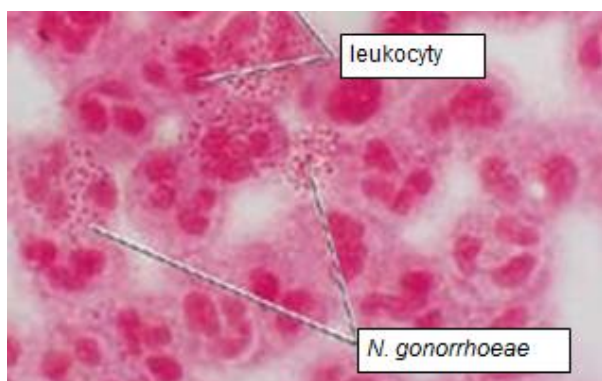
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/27/Gonococcal_ophthalmia_neonatorum.jpg

Tabuľka 8. Vlastnosti neisserií – prehľad.

	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
Virulencia, ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - G- diplokoky - kultivačne náročné - oxidáza a kataláza - Pozitívne - polysacharidové puzdro - fimbrie - lipooligosacharidy - intracelulárne prežívanie - produkcia kyseliny z glukózy a maltózy 	<ul style="list-style-type: none"> - G- diplokoky - kultivačne náročné - rast v atmosfére s CO₂ - oxidáza a kataláza - Pozitívne - produkcia kyseliny z glukózy - fimbrie
Epidemiológia	<ul style="list-style-type: none"> - prirodzený hostiteľ - iba človek - kolonizuje nazofarynx - prenos blízkym kontaktom, aerosolom z DC - ochorenie najčastejšie u detí do 5 rokov, u mladých ľudí v skupinách (napr. kasárne, študentské domovy) - meningitídu a meningokokcémiu vyvolávajú hlavne skupiny B, C, Y 	<ul style="list-style-type: none"> - prirodzený hostiteľ - iba človek - asymptomatické nosičstvo - prenos sexuálnym kontaktom - riziko diseminácie u imunokompromitovaných osôb
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - mikroskopia vzoriek z CNS (likvor) - kultivácia - detekcia antigénu - biochemická identifikácia (oxidácia glukózy a maltózy) 	<ul style="list-style-type: none"> - mikroskopia – muži, (vzorka z uretry) - kultivácia (Thayer-Martin pôda) - detekcia nukleových kyselín - biochemická identifikácia (oxidácia glukózy)
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - empirická, iniciačná (cefotaxim, ceftriaxon) - penicilín G u citlivých kmeňov 	<ul style="list-style-type: none"> - Azitromycín, Doxycyklín, Ceftriaxon
Prevencia	<ul style="list-style-type: none"> - chemoprofylaxia (u kontaktných osôb, cefotaxim, ceftriaxon, rifampicín) - imunoprofylaxia (vakcína, dostupná pre skupiny A,C,Y, W135) 	<ul style="list-style-type: none"> - novorodenci profylaxia 1% NaNO₃ - vakcína nie je dostupná

Meningokoková meningitída začína obvykle náhle, je sprevádzaná bolesťou hlavy a horúčkou. Rýchlo progredujúce ochorenie je typické pri bakterémii – meningokokcémia, sepsa - s krvácaním do kože a vnútorných orgánov (Waterhouse-Friederichsenov syndróm). Možná je aj chronická meningokokcémia. Vakcína proti

meningitíde obsahuje polysacharidové antigény typu A, C, X, W, Y. Polysacharid antigénneho typu B je slabo imunogénny, preto očkovacia látka nie je k dispozícii.



Obr. 29. Gramnegatívne diplokoky umiestnené voľne aj v prítomných polymorfonukleárnych leukocytoch.

<http://faculty.mc3.edu/jearl/ML/ml-5-3.htm>

Laboratórna diagnostika a liečba

N. gonorrhoeae sa diagnostikuje na základe mikroskopie vaginálneho výteru s nálezom gramnegatívnych diplokokov, epitélií a polymorfonukleárnych leukocytov. Na kultiváciu sa odoberá výter z vagíny a u mužov výter z uretry. Biologický materiál je inokulovaný na modifikovaný krvný agar alebo na čokoládový agar s prítomnosťou antibiotík na potlačenie rastu sprievodnej fyziologickej flóry (Thayer-Martin agar). *N. gonorrhoeae* rastie v šedavých kolóniách (pripomínajúcich kvapky rosy), ktoré po zakvapnutí činidlom na detekciu cytochromoxidázy sčernajú. Odlišenie od ostatných neissérií je možné na základe biochemických testov.

N. meningitidis - mikroskopia likvoru – gramnegatívne diplokoky umiestnené voľne aj v prítomných polymorfonukleárnych leukocytoch. Vzhľadom na akútny priebeh je dôležitá možnosť dôkazu voľných antigénov latexovou aglutináciou v likvore a v moči, prípadne mikroskopia a kultivácia z petechií. Baktérie sú kultivačne veľmi náročné, rastú na krvnom a čokoládovom agare v atmosfére s 5-10% CO₂. Skupinovú typizáciu sa uskutočňuje v špecializovanom laboratóriu ELISA metódou.

N. gonorrhoeae je citlivá na PNC, cefalosporíny, niektoré kmene produkujú betalaktamázu. Ďalšími účinnými antibiotikami sú tetracyklín, chinolóny a novšie makrolidy.

N. meningitidis je citlivá na PNC, rezistenciu môže spôsobiť genetická zmena penicilín viažucich proteínov, chloramfenikol, cefalosporíny. Rezistenciu meningokokov na penicilín môže spôsobiť genetická zmena penicilín viažucich proteínov (PBP). Na eradikáciu nosičstva sa používajú sulfonamidy, rifampicín. Prirodzene rezistenté sú na linkomycín a trimetoprim.

Nepatogénne neissérie

Ostatné neissérie, ako sú *N. sicca*, *N. mucosa*, *N. lactamica*, *N. flavescens*, *N. subflava*, sú komenzálmi na slizniciach orofaryngu a genitálneho traktu. Nie je známa skutočná incidencia infekcií respiračného traktu vyvolaných týmito baktériami, pretože množstvo vzoriek odoberaných od pacientov je kontaminovaných ústnou mikroflórou.

Väčšina nepatogénnych neissérií je citlivá na penicilín, bol však zaznamenaný aj výskyt rezistentných kmeňov (rezistencia sa vyvíja na základe alterácie PBP).

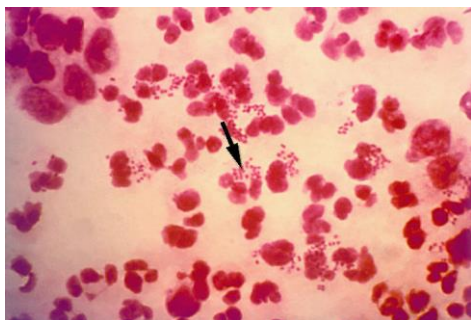
Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopický dôkaz neissérií

N. meningitidis: preparát z biologického materiálu (likvor), zafarbený podľa Grama.

G- diplokoky (vytvárajú dvojice, tvarom pripomínajúce kávové zrná), sú uložené intracelulárne aj extracelulárne.

N. gonorrhoeae: v preparátoch z patologického materiálu sú uložené väčšinou intracelulárne v polymorfonukleárnych leukocytoch a menej extracelulárne.



Obr. 30. *N. gonorrhoeae* – preparát z klinického materiálu, farbenie podľa Grama.

http://textbookofbacteriology.net/pathogenesis_3.html

B. Kultivácia neissérií

Čokoládový agar

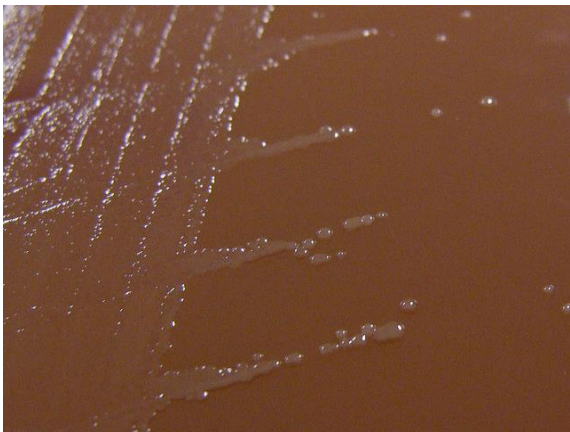
Čokoládový agar (CHOC) je kultivačné médium, ktoré sa vyrába zmiešaním horúceho (80°C) agaru s krvou. Pri tepelnej lýze sa z erytrocytov uvoľňuje množstvo rastových faktorov (NAD, hemín). CHOC sa používa najmä na kultiváciu patogénnych neissérií a hemofilov. Hemoglobín obsiahnutý v pôde je dôležitý pre rast uvedených baktérií (termostabilný faktor X).

C. Cytochromoxidázový test (oxidázový test)

Cytochromoxidázový test sa používa na detekciu produkcie cytochromoxidázy.

Pozitívny výsledok: Kovacsovo činidlo (tetrametyl-p-fenylendiamin dihydrochlorid) po pridaní ku baktériám, ktoré obsahujú cytochróm c ako časť respiračného reťazca, zmení farbu (sčernie). Neissérie majú oxidázovú reakciu pozitívnu. Prejaví sa po 10 sekundách sčernením kolónií po pridaní činidla priamo do petriho misky, alebo ak sa baktérie nanesú na prúžok filtračného papiera napusteného činidlom, v mieste nánosu sa objaví tmavofialová farba.

Negatívny výsledok: nedôjde k sčerneniu kolónií v petriho miske alebo sa neobjaví fialová farba na prúžku filtračného papiera.

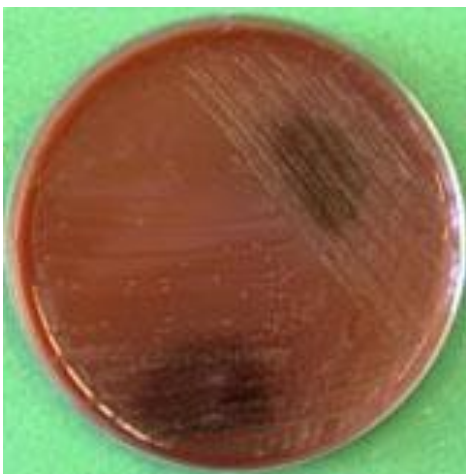


Obr. 31. *N. gonorrhoeae* na čokoládovom agare. Drobné kolónie, pripomínajúce tvarom kvapky rosy.

<http://www.flickr.com/photos/nathanreading/6652878497/>

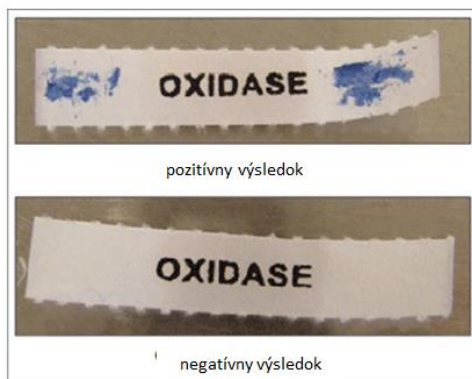


Obr. 32. *N. meningitidis* na čokoládovom agare.



Obr. 33. Oxidázová reakcia – sčernenie kolónií *N. meningitidis* po pridaní činidla.

http://bluegrass.kctcs.edu/en/Natural_Sciences/Biology/Virtual_Labs/Virtual_Lab_4.aspx

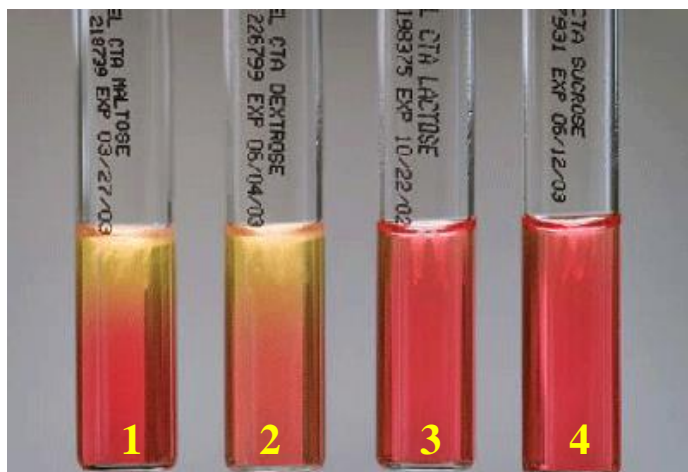


Obr. 34. Oxidázová reakcia – pozitívny a negatívny výsledok. Pozitívny výsledok sa prejaví vznikom fialovej farby po nanesení vyšetřovaných baktérií.

<http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt07-id-characterization-nm.html>

D. Biochemické vlastnosti neissérií

Test na utilizáciu cukrov sa používa pri identifikácii *N. meningitidis*. Na tento test sa používa agar s glukózou, maltózou, laktózou a sacharózou, každý cukor sa pridáva do osobitnej skúmavky s CTA základom (angl. cystine trypticase agar, CTA). Ako farebný indikátor sa používa fenolová čereň (indikátor kyslého pH, zmení farbu na žltú pri pH 6,8 alebo nižšom). **Vznik viditeľného zákalu a zožltnutie hornej časti pôdy znamená, že naočkované baktérie rastú a produkujú kyselinu - pozitívny výsledok testu.** Negatívny výsledok sa definitívne odčítava až po 72 hodinách kultivácie. Na základe tohto testu je možné odlišiť *N. meningitidis* od ostatných neissérií.



Obr. 35. *N. meningitidis*. Utilizácia cukrov – CTA. Pozitívny výsledok je viditeľný v prvých dvoch skúmavkách (maltóza, glukóza). *N. meningitidis* oxiduje len maltózu a glukózu, nie laktózu a sacharózu.

<http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt07-id-characterization-nm.html>

E. Identifikácia séroskupín *N. meningitidis*

Pri bakteriálnej meningitíde sa na mikrobiologické vyšetrenie odoberá cerebrospinálny mok (CSM), ktorý býva zakalený, obvykle obsahuje veľké množstvo polymorfonukleárných leukocytov a baktérie.



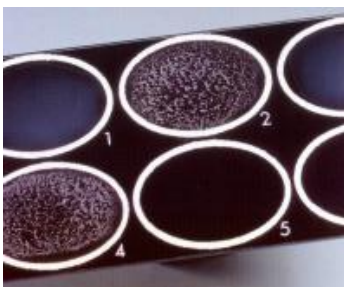
Obr. 36. Cerebrospinálny mok pri meningokokovej meningitíde.

http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/theacher/infections/infec_kochar/English/Recommendations%20for%20preparing%20practical%20classes/Herpetic%20disease,meningococcal%20disease,%20sepsis.htm

Latexová aglutinácia

V súčasnosti je identifikovaných 12 séroskupín *N. meningitidis*, za epidémie sú zodpovedné predovšetkým séroskupiny A, B, C, W135, X a Y.

Na sérotypizáciu *N. meningitidis* je možné využiť metódu latexovej aglutinácie (napr. Directigen Meningitis Combo Test). Ide o predbežnú priamu kvalitatívnu identifikáciu antigénov *N. meningitidis* skupiny A, B, C, Y alebo W135 priamo v mozgovomiechovom moku. Latexové častice sú pokryté protilátkami proti určitej séroskupine. Pri reakcii vzorky obsahujúcej antigény s latexovými granulami obalenými príslušnými protilátkami dochádza k viditeľnej aglutinácii.



Obr. 37. Latexová aglutinácia.

Baktérie príbuzné neissériám

Moraxella catarrhalis

Charakteristika

V posledných 20 rokoch bola *Moraxella catarrhalis* klasifikovaná ako *Neisseria catarrhalis* alebo *Branhamella catarrhalis*. *Moraxella catarrhalis* je gramnegatívny kokobacil.

Patogénny potenciál a imunita

M. catarrhalis je baktéria vyskytujúca sa v nosohltane ako súčasť fyziologickej mikroflóry, má dva geneticky príbuzné kmene s rôznou virulenciou. Menej virulentný

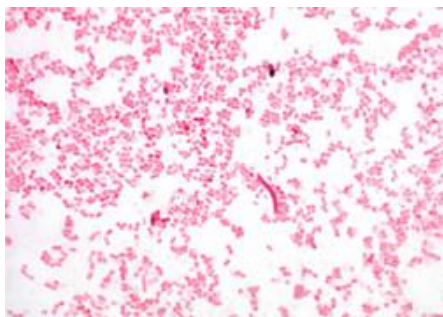
kmeň je často príčinou sekretorickej otitídy (tekutina v strednom uchu bez príznakov zápalu) s prevodovou poruchou sluchu.

Ochorenia

Je to podmienenčne patogénny mikroorganizmus spôsobujúci lokalizované infekcie horných dýchacích ciest, pneumóniu, bronchitídu. Je tretím najčastejším bakteriálnym etiologickým agensom zápalov stredného ucha u detí.

Laboratórna diagnostika a liečba

Je kultivačne nenáročná, rastie dobre na krvnom agare. Nález je možné potvrdiť testom na tributyrát alebo podľa skvasovania sacharidov. Väčšina kmeňov produkuje beta-laktamázu, tieto kmene sú rezistentné na penicilín a ampicilín. Baktéria je citlivá na erytromycín, tetracyklín, kotrimoxazol a chránený ampicilín (ampicilín-sulbaktam, amoxicilín-klavulanát).



Obr. 38. *Moraxella catarrhalis*.

http://bmtjournal.blogspot.sk/2007_12_01_archive.html

Eikenella corrodens

Charakteristika

E. corrodens je baktéria podobná neissériám. V mikroskopických preparátoch sú tieto baktérie gramnegatívne, nesporulujúce krátke paličky. Sú fakultatívne anaeróbne, tvoria súčasť fyziologickej mikroflóry horných dýchacích ciest. Sú kultivačne náročné, preto je ich identifikácia možná len na špeciálnych kultivačných médiách.

Ochorenia

Ako oportúnne patogény vyvolávajú infekcie najmä u imunokompromitovaných pacientov a u ľudí s poraneniami v ústnej dutine. Najčastejšie je *E. corrodens* izolovaná z rán po pohryzení človekom. Ďalej môže vyvolať endokarditídu, sínusitídu, meningitídu, mozgové abscesy, pneumóniu a abscesy v pľúcach.



Obr. 39. *E. corrodens* – infekcia palca po pohryzení.

Kuzucu et al: *Eikenella corrodens* Wound Infection Secondary to Self-Bite: Case Report SMGr up, Annals of Burns and Trauma, Published : Jan 02, 2018, Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0

Laboratórna diagnostika a liečba

Kultivácia je náročná, *E. corrodens* rastie na krvnom agare alebo na čokoládovom agare pomaly, typické je kolónie sa objavajú po 48 hodinách, typické je preliačenie agaru.



Obr. 40. *E. corrodens* – kolónie.

E. corrodens je citlivá na penicilín, cefalosporíny, tetracyklín a fluorochinolóny. Baktérie sú rezistentné na cefalosporíny 1. generácie, na klindamycín, erytromycín a aminoglykozidy. Rezistencia baktérií na mnohé antibiotiká je príčinou neúspešnej empirickej liečby poranení po pohryzení človekom.

Kingella kingae

K. kingae je morfológicky podobná neissériám, v mikroskopickom obraze pozorujeme gram-negatívne kokobacily. Osídľujú orofarynx u človeka, sú fakultatívne anaeróbne, kultivačne náročné. U detí vyvolávajú septickú artritídu a môžu vyvolať endokarditídu vo všetkých vekových skupinách. Sú citlivé na penicilín, tetracyklín, erytromycín, fluorochinolóny a aminoglykozidy.

Kazuistika

17-ročné dievča bolo prijaté do nemocnice so 4 dni trvajúcou horúčkou, zimnicou, nevoľnosťou, bolesťou hrdla, kožnými vyrážkami a polyartralgiami. V anamnéze potvrdila, že je sexuálne aktívna a už 5 týždňov má neliečený profúzny žltý vaginálny výtok. Vyšetrenie pri prijatí potvrdilo výskyt makulopapulóznych kožných lézií na predlaktiach, stehnách a členkoch, na metakarpofalangeálnych kĺboch, zápästiach, kolenách, tarzálne kĺby boli zapálené. Pacientka mala zvýšený počet leukocytov a zvýšenú sedimentáciu erytrocytov. Výsledky mikrobiologického vyšetrenia vzoriek odobratých z kožných lézií, krvi a synoviálna tekutina boli sterilné. Kultivácia vzorky z krčka maternice potvrdila prítomnosť *N. gonorrhoeae*. Pacientka bola úspešne liečená penicilínom G, liečba trvala dva týždne.

Ktoré z opísaných anamnestických údajov sú v danom prípade dôležité pre stanovenie predbežnej diagnózy.

Aká diagnóza je podľa opísaných klinických príznakov a výsledkov vyšetrení najpravdepodobnejšia?

Kazuistika

Na urgentný príjem bola privezená 19-ročná žena pre náhly vzostup teploty a akútne bolesti hlavy. Pri prijatí mala teplotu 40,5°C, mala tachykardiu 148 pulzov/min., tlak krvi bol 75/40. Na hrudníku boli prítomné početné petéchie. Kultivačné vyšetrenie cerebrospinálneho moku nepotvrdilo prítomnosť baktérií, hemokultúra bola pozitívna s nálezom *N. meningitidis*. Aj napriek okamžitej liečbe antibiotikami sa stav pacientky rapidne zhoršil, po 12 hodinách od prijatia do nemocnice pacientka zomrela.

Aké sú príčiny rapidnej progresie meningokokovej meningitídy?

Vysvetlite princíp vzniku petéchií.

Ktoré vekové skupiny sú najviac postihované meningokokovou meningitídou?

OTÁZKY

1. Aké ochorenia vyvolávajú gonokoky a ako sa tieto ochorenia šíria?
2. Aký infekčný materiál sa odoberá pri gonokokových nákazách a ako je možné zabezpečiť čo najvyššiu zachytnosť gonokokov?
3. Ako vyzerá *N. gonorrhoeae* v mikroskope a aké sú možnosti kultivačného dôkazu?
4. Opíšte patogenézu vzniku kvapavky.
5. Aké sú možnosti liečenia kvapavky?
6. Aké ochorenia vyvolávajú meningokoky a ako sa šíria?

7. Aký infekčný materiál sa odoberá pri meningokokových infekciách a ako sa vyšetruje?
8. Opíšte hlavné vlastnosti *M. catarrhalis*.
9. Vysvetlite princíp latexovej aglutinácie.
10. Ako je možné stanoviť biochemické vlastnosti neissérií?
11. Aký je výsledok oxidázového testu u neissérií?
12. Charakterizujte nepatogénne neissérie.
13. Charakterizujte *E. corrodens*.

1.3 Grampozitívne sporulujúce paličky

Bacily

Bacillus anthracis

Bacillus cereus

Bacillus subtilis

Charakteristika

Existuje okolo 250 druhov rodu *Bacillus*. Medicínsky najvýznamnejším predstaviteľom je *B. anthracis*, ktorý spôsobuje prevažne ochorenie zvierat. Práce Roberta Kocha o antraxe viedli k formulácii Kochových postulátov o identifikácii mikroorganizmov ako etiologických agensov. Pasteur použil teplom inaktivované kmene *B. anthracis* na imunizáciu zvierat. Termín „bacillus“ (bacil) bol pôvodne používaný pre všetky bakteriálne paličky (napr. bacillus Calmet-Guerin) a používal sa aj ako synonymum pre patogénne mikroorganizmy (chrípkový bacil). Jednou zo spoločných vlastností rodu *Bacillus* je schopnosť baktérií vytvárať spóry.



Obr. 41. *Bacillus anthracis* – grampozitívne paličky.

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Bacillus_anthraxis_Gram.jpg

Patogénny potenciál a imunita

B. anthracis - najdôležitejšími faktormi virulencie *B. anthracis* sú puzdro, protektívny antigénny toxín, edematózný faktor a letálny toxín. Púzdro *B. anthracis* je proteínové, inhibuje fagocytózu. Edematózný faktor má adenylátcyklázovú aktivitu, spôsobuje hromadenie tekutiny v tkanivách. Letálny toxín stimuluje uvoľňovanie tumor-nekrotizujúceho faktoru α (TNF α), interleukínu 1 a ďalších prozápalových cytokínov. Kombinácia toxínov je dôležitá pre vznik ochorenia. Vždy musí byť prítomný letálny toxín. Letálny toxín a edematózný faktor inhibujú imunitný systém hostiteľa.

Protektívny antigén je najviac imunogénny, protilátky proti protektívnemu antigénu sú nevyhnutné na zabezpečenie účinnej ochrany.

B. cereus - nástrojom patogenity je imunogénny enterotoxín spôsobujúci hnačku (termolabilný toxín) a vracanie (termostabilný toxín). Termolabilný enterotoxín stimuluje adenylátcyklázový systém v epitelových bunkách čreva, čo vedie k profúznei vodnatej hnačke. Mechanizmus účinku termostabilného enterotoxínu nie je objasnený. U panofthalmitídy vyvolanej *B. cereus* zohrávajú významnú úlohu toxíny enzýmovej povahy (cereolizín, nekrotický toxín, fosfolipáza C), ktoré zodpovedajú za tkanivové poškodenie.

Ostatné bacily zvyčajne neprodukujú toxíny, môžu vytvárať antibakteriálne látky (napr. bacitracín, *B. polymyxa* – polymyxin)

Tabuľka 9. *B. anthracis* a *B. cereus* – charakteristika.

	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - sporujúca baktéria - grampozitívny - polypeptidové púzdro - nepohyblivý - exotoxíny: protektívny antigén, edematózný faktor, letálny faktor 	<ul style="list-style-type: none"> - sporujúca baktéria - grampozitívny - pohyblivý - enterotoxíny: termostabilný (vracanie) termolabilný (hnačka) cereolizín fosfolipáza C
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - kožný antrax - gastrointestinálny antrax - inhalačný antrax 	<ul style="list-style-type: none"> - otrava z jedla: emetická forma hnačka - infekcie oka - infekcie podobné antraxu (zriedkavé, u imunokompromitovaných)
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - mikroskopia: grampozitívne mohutné paličky v retiazkach, centrálné uložené spóry - kultivácia: veľké drsné belavé kolónie s nepravidelnými okrajmi, netvorí hemolýzu na krvnom agare 	<ul style="list-style-type: none"> - mikroskopia: grampozitívne paličky, centrálné uložené spóry kultivácia: veľké drsné, matné, suché kolónie s nepravidelnými okrajmi, široká zóna β-hemolýzy
Prevencia	<ul style="list-style-type: none"> - vakcinácia zvierat v endemických oblastiach - vakcinácia ľudí má limitované použitie 	gastrointestinálne infekcie: dostatočná tepelná úprava jedla
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - ciprofloxacín a doxycyklín v kombinácii s penicilínom, vankomycínom, klindamycínom alebo klaritromycínom 	gastrointestinálne infekcie: symptomatická očné infekcie: vankomycín, klindamycín, ciprofloxacín, gentamicín

Ochorenia

Bacily sú rozšírené po celom svete, sú prítomné v pôde vo forme spór, ktoré prežívajú roky aj v nepriaznivých klimatických podmienkach. *Bacillus anthracis* vyvoláva antrax, ktorý sa u ľudí vyskytuje hlavne ako profesionálna nákaza pri kontakte s infikovaným zvieratom alebo jeho produktami (vlna, koža). Sporadicky sa vyskytuje antrax zvierat po splavení spór v pôde do oblastí pastvín dobytku pri záplavách (Slovensko 2010).



Obr. 42. Kolónie *B. anthracis* na krvnom agare.

<http://eol.org/pages/974636/overview>

Podľa cesty prenosu existujú 3 typy antraxu u ľudí:

- **kožný antrax** (čierny vred), vyvíjajúci sa po inokulácii spór. Je to najčastejšia forma antraxu. V mieste inokulácie spór vzniká najprv nebolestivá papula, z ktorej sa postupne stáva vred ohraničený vezikulami, napokon vzniká nekrotický príškvar (eschar). Šírenie baktérie do krvi, lymfatických uzlín a následnej toxickéj septikémie s letálnym koncom je častejšie po chirurgickom zákroku (spontánne dochádza k šíreniu baktérií do krvi len asi u 5% infikovaných).
- **inhalačný antrax** – inhalované spóry sú pohltené makrofágmi a transportované do regionálnych lymfatických uzlín, ktoré nekrotizujú a krvácajú. Táto forma je letálna v 90% infikovaných. Inhalačný antrax je často spojený s dlhou dobou latencie (aj viac ako 2 mesiace), počas ktorej je pacient asymptomatický. Počiatkové klinické príznaky ochorenia sú nešpecifické, pacient môže mať horúčku, neproduktívny kašeľ a bolesti svalov. V ďalšej fáze ochorenia dochádza k rapidnému zhoršeniu stavu, pacient má vysoké horúčky, edém a masívne zväčšenie mediastinálnych lymfatických uzlín. Takmer u všetkých prípadov inhalačného antraxu dochádza v priebehu 3 dní od nástupu príznakov k rozvoju šokového stavu a k smrti.
- **gastrointestinálny antrax** – je u ľudí veľmi zriedkavý, vzniká po ingescii spór. Podľa miesta vstupu sa infekcia klinicky prejavuje buď tvorbou vredov v ústach a v pažeráku (vstup spór v hornej časti GIT), alebo nevoľnosťou, vracaním a rýchlou progresiou systémovej infekcie (vstup spór cez hrubé črevo a terminálne ileum), rozvojom nekrotizujúcej enterokolitídy s následnou septikémiou a letalitou viac ako 50%.



Obr. 43. Kožný antrax.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Anthrax_PHIL_2033.png

B. cereus vyvoláva **intoxikáciu z potravín** po ingescii toxínov, vracanie sa objaví po 1-6 hodinách, termolabilný toxín sa vytvorí po germinácii spór požitých obvykle v kontaminovanom mäse a zelenine. Táto forma sa prejaví ako hnačka po 8-12 hodinách. Prepuknutie intoxikácie spôsobenej *B. cereus* je obvykle sporadické. Typické bolo lokálne nahromadenie prípadov intoxikácie po požití praženej ryže v reštauráciách. Penetrujúce poranenie oka môže pri kontaminácii vniknutého nástroja spôsobiť **panoftalmitídu** s letálnymi následkami. V súčasnosti sa vyskytli endoftalmitídy po intraokulárnej aplikácii spórami kontaminovaných umelých šošoviek pre kataraktu.

Laboratórna diagnostika a liečba

B. anthracis je hrubá grampozitívna palička, v mikroskopickom preparáte vytvára charakteristické dlhé retiazky, popisované ako „caput medusae“. Spóry identifikujeme len in vitro, nie priamo v biologickom materiáli. Mikroskopicky sa spóry znázorňujú špeciálnym farbením (Wirtz-Conklin), pri Gramovom farbení sa znázorňujú ako prázdne miesta v tele baktérie. Spóry nedeformujú tvar tela baktérie a sú uložené prevažne centrálné. Proteín puzdra *B. anthracis* sa môže dokázať termoprecipitačnou metódou podľa Ascoliho. Rastú v širokom teplotnom rozmedzí (15°C - 45°C). *B. anthracis* rastie na krvnom agare vo forme nehemolytických nepravidelných suchých matných kolónií s nerovným okrajmi a výbežkami (ako kvapka vosku). *Bacillus anthracis* skvapalňuje želatínu a vytvára obrazec vo forme obrátenej vetvičky. Toxíny sa dokazujú imunologicky. Dekontaminácia infikovaných produktov, hlboké pochovávanie zvieracích kadáverov a používanie ochranného oblečenia môže znížiť incidencia profesionálneho antraxu. Chemoprevenčia antibiotikami nie je účinná. Existuje viacero zvieracích vakcín na imunizáciu proti antraxu. Humánne vakcíny sú rôznej imunogenicity, ich použitie je prísne indikované. *B. anthracis* je dobre citlivý na penicilín, antibiotickú liečbu (na eradikáciu baktérií) je potrebné začať čo najskôr spolu s podaním špecifického antitoxického séra.

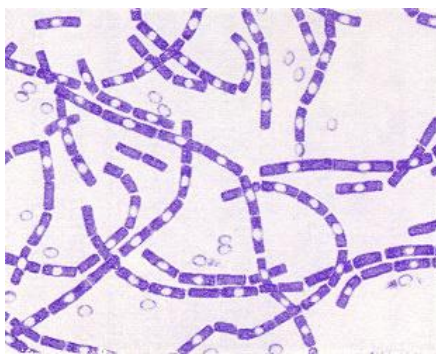
B. cereus rastie na krvnom agare v typických matných veľkých suchých kolóniách so širokou zónou beta hemolýzy. Ochrana pred intoxikáciou spôsobenou *B. cereus* je možná dostatočným schladením potravín po tepelnej príprave pred podávaním. *B. cereus* je dobre citlivý na klindamycín a gentamicín, častá je rezistencia na penicilín a cefalosporíny.

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopický dôkaz *B. anthracis*

Mikroskopujte preparát pripravený z kultúry *B. anthracis* zafarbený podľa Grama.

B. anthracis sú hrubé, grampozitívne paličky s tupými odseknutými koncami, vytvárajú dlhé reťaze paličiek s centrálnymi spórmi vyplňujúcimi celý priemer baktérie, ktoré sú v preparátoch farbených podľa Grama viditeľné ako nezafarbené útvary, puzdro môže byť viditeľné ako nezafarbený lem okolo baktérie.

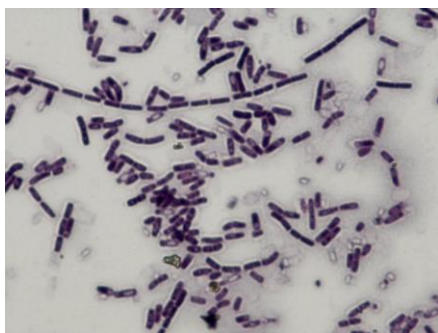


Obr. 44. *B. anthracis* – farbenie podľa Grama.

<http://textbookofbacteriology.net/Anthrax.html>

Zhotovte fixovaný preparát z kultúry *B. cereus*, zafarbite podľa Grama, mikroskopujte.

B. cereus je mohutná grampozitívna palička bez puzdra.

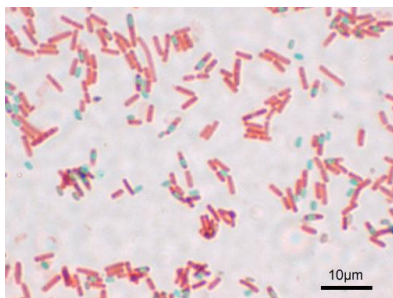


Obr. 45. *B. cereus* – farbenie podľa Grama.

<http://www.newswise.com/images/uploads/2011/08/23/BacilluscereusScottRose.jpg>

Zafarbite fixovaný preparát z kultúry *B. cereus* podľa Wirtz-Conklina, mikroskopujte.

Wirtz-Conklin je diferenciačné farbenie na spóry, sporoformné baktérie sú červené, spóry zelené. Baktériová suspenzia sa usuší na vzduchu, zafixuje teplom a preleje 5% malachitovou zelenou. Zahrieva sa 3-krát do výstupu pár (3-6 minút), opláchnie pod tečúcou vodou. 0,5% vodný roztok safranínu sa použije na dofarbenie (30 sekúnd). Preparát sa opláchnie pod tečúcou vodou, vysuší a mikroskopuje (imerzia, objektív 100x). Príslušníci rodu *Bacillus* majú centrálnymi uložené spóry, ktoré nedeformujú telo pôvodnej vegetatívnej bakteriálnej bunky.



Obr. 46. *B. subtilis* – farbenie podľa Wirtz-Conklina.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7a/Bacillus_subtilis_Spore.jpg

B. Kultivácia *B. anthracis* a *B. cereus*

Kultivácia *B. anthracis*, *B. cereus* na krvnom agare – popíšte veľkosť, farbu, tvar kolónií a typ hemolýzy na krvnom agare.

B. anthracis - kolónie majú drsný povrch s jemnými výbežkami, tvorenými retiazkami bacilov. Hemolýza nie je prítomná.

B. cereus - kolónie sú veľké, špinavohnedé, drsné s výbežkami, prítomná je úplná hemolýza.



Obr. 47. *B. cereus* na krvnom agare.

<http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/B.cereus.html>

Kazuistika

63-ročný muž bol hospitalizovaný pre horúčku, bolesti svalov, nevoľnosť, slabosť, príznaky sa objavili pred 4 dňami. Pacient udáva vracanie, celkovú zmätenosť. Vyšetrenia pri prijatí preukázali horúčku 39°C, krvný tlak 150/80 mm Hg, pulz 110 úderov/minútu, dýchanie normálne. Pacienta liečili pre predpokladanú bakteriálnu meningitídu. RTG vyšetrenie hrudníka odhalilo infiltráty v oboch pľúcnych bázach a rozšírené mediastinum. Vyšetrením likvoru sa zistila prítomnosť neutrofilov a veľkých grampozitívnych paličiek. Po 24 hodinách kultivačné nálezy z likvoru a z krvi potvrdili prítomnosť *B. anthracis*, pacienta liečili penicilínom. Počas prvého dňa hospitalizácie mal pacient grand mal záchvat, bol intubovaný. Počas druhého dňa hospitalizácie bola zaznamenaná hypotenzia a azotémia s následným renálnym zlyhaním, počas tretieho dňa došlo k prehĺbeniu hypotenzie, pacient zomrel na zástavu srdca.

Ktorá forma antraxu má obvykle fatálny priebeh?

Je pre inhalačnú formu najtypickejším príznakom pneumónia?

Čo pravdepodobne zapríčinilo abnormálny nález na mediastíne?

Kazuistika

44-ročný muž utrpel poranenie oka pri práci v záhrade, do ľavého oka sa mu zapichol kúsok kovu, ktorý poškodil rohovku a šošovku. V priebehu nasledujúcich 12 hodín pacient udával stupňovanie bolesti a hnisanie oka. Pacient podstúpil chirurgický zákrok na uvoľnenie tlaku v oku, zavedenie drenáže, dostal intravitreálnu antibiotickú liečbu (ceftazidín, vankomycín) a dexametazon. Z aspirovanej tekutiny bol kultivačne dokázaný *B. cereus*. Pooperačne bol indikovaný ciprofloxacín. Aj napriek rýchlej chirurgickej intervencii a intravitreálnej aplikácii antibiotík sa stav pacienta zhoršoval, vnútroočný zápal pokračoval a bolo nutné vykonať evisceráciu oka.

Aká je patogenéza ochorenia u tohto pacienta?
Ktoré toxíny sa podieľajú na vzniku očných infekcií vyvolaných *B. cereus*?

OTÁZKY

1. Opíšte *B. anthracis* a *B. cereus* v mikroskopických preparátoch farbených podľa Grama.
2. Opíšte *B. anthracis* a *B. cereus* v mikroskopických preparátoch farbených podľa Wirtz-Conklina.
3. Aké klinické formy antraxu poznáte? Opíšte spôsoby prenosu pri jednotlivých formách.
4. Ako sa kultivuje *B. anthracis* a ako rastie na kultivačných pôdach?
5. Čím sa odlišuje pôvodca antraxu od *B. cereus*?
6. Na čo sa používa Ascoliho termoprecipitačná metóda?
7. Kde je možné identifikovať spóry *B. anthracis*?
8. Čo viete o epidemiológii antraxu?
9. Aké ochorenia vyvoláva *B. cereus*?
10. Aké sú faktory virulencie u *B. anthracis*?
11. Aký je postup pri liečbe antraxu?

1.4 Grampozitívne nesporelujúce paličky

Korynebaktérie

Rod: *Corynebacterium*

druh: *diphtheriae*
pseudodiphtheriticum
urealyticum
pseudotuberculosis
ulcerans
jeikeium

Charakteristika

Korynebaktérie sú grampozitívne pleiomorfné paličky (môžu byť gram-variabilné), majú kyjakovitý tvar a charakteristické usporiadanie viditeľné v mikroskopickom preparáte (sú isporiadané ako palisády, písmená X, Y, V). Baktérie (staršie kultúry) vytvárajú cytoplazmatické granuly, v ktorých uskladňujú anorganické fosfáty. Granuly je možné znázorniť špeciálnymi farbiacimi metodikami (metachromatické granuly, farbenie podľa Alberta).

Tabuľka 10. Korynebaktérie – charakteristika.

	<i>C. diphtheriae</i>	Ostatné korynebaktérie
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none">- grampozitívne pleiomorfné paličky- difterický exotoxín- metachromatické granuly	<ul style="list-style-type: none">- grampozitívne pleiomorfné paličky- produkcia difterického exotoxínu (<i>C. ulcerans</i>, <i>C. pseudotuberculosis</i>)
Ochorenia	<p>difteria:</p> <ul style="list-style-type: none">- v respiračnom trakte- kožná forma	<ul style="list-style-type: none">- septikémia- endokarditída- infekcie rán kontaminovaných baktériami z cudzích telies- infekcie močových a dýchacích ciest
Diagnostika	<p>Mikroskopia:</p> <ul style="list-style-type: none">- farbenie podľa Grama- farbenie podľa Alberta <p>Kultivácia:</p> <ul style="list-style-type: none">- krvný agar- pôdy s obsahom telúru- Tinsdaleova pôda- Claubergova pôda <p>Dôkaz toxínu:</p> <ul style="list-style-type: none">- Elekov test- pokus na zvierati	<p>Mikroskopia</p> <ul style="list-style-type: none">- farbenie podľa Grama <p>Kultivácia:</p> <ul style="list-style-type: none">- pomalý rast- pridanie lipidov do kultivačných pôd
Prevencia	<ul style="list-style-type: none">- vakcinácia (toxoid)	<ul style="list-style-type: none">- odstránenie cudzích telies
Liečba	<ul style="list-style-type: none">- difterický antitoxín (neutralizácia exotoxínu)- penicilín, erytromycín (eliminácia baktérií)	<ul style="list-style-type: none">- antibiotiká indikované podľa výsledkov testov na stanovenie citlivosti

Patogénny potenciál a imunita

Mikroorganizmus kolonizuje sliznice horných ciest dýchacích a produkuje enzým neuraminidázu, ktorý rozkladá kyselinu N- acetylneuraminovú na povrchu epitelových buniek, pričom vzniká pyruvát, slúžiaci ako rastový stimulátor. *C. diphtheriae* produkuje IgA proteázu, ktorá likviduje IgA slizničný imunoglobulín. Ochorenie vyvolávajú len toxigénne kmene – kmene schopné produkovať difterický exotoxín. Toxigenicita je prenášaná z toxigénneho na netoxigénny kmeň prostredníctvom bakteriofága (lyzogénna konverzia). Difterický toxín je AB toxín - obsahuje jedinú disulfidickú väzbu. Jej natrávením trypsínom vzniknú 2 fragmenty A a B. B je väzbový, ktorý sa naviaže na povrch bunky, vtedy sa pomocou proteáz uvoľní A fragment, ktorý vstúpi do bunky. Jeho účinok je ADP ribosyltransferázový – inaktivuje translačný elongačný faktor EF2, zodpovedný za predlžovanie proteínového reťazca pri proteosyntéze. Exotoxín je imunogénny a protilátky proti nemu sú protektívne. Protektívny účinok je rovnocenný nezávisle na forme ochorenia (záškrt, kožná diftéria). Ostatné - nepatogénne korynebaktérie - môžu byť súčasťou fyziologickej flóry na koži, v horných cestách dýchacích a v pošve (tzv. difteroidné paličky).

Podmienečne patogénny potenciál má *Corynebacterium JK (jeikeium)* - vyvoláva infekcie rán, slizníc, popálenín u imunosuprimovaných pacientov.



Obr. 48. Záškrt – pseudomembrána v hrdle.

<http://microbewiki.kenyon.edu/images/0/01/Throat.jpg>

Ochorenia

C. diphtheriae vyvoláva záškrt. Lokalizovaná diftéria, diftéria postihujúca tonzily, diftéria postihujúca hltan sa prejaví náhlou nevoľnosťou, bolesťami hrdla a bolesťami pri prehltaní, zriedkavo sa môže objaviť vracanie. Diftéria postihujúca nos sa vyskytuje prevažne u dojčiat a malých detí. V dýchacích cestách sa vytvárajú pevne adherujúce membrány, ktoré môžu uzavrieť dýchacie cesty. Kožná diftéria je charakterizovaná krvavo – vodnatou sekréciou a tvorbou membrán.



Obr. 49. Kožná diftéria – hlboký vred s ohraňovanými okrajmi.

<http://bestpractice.bmj.com/best-practice/monograph/738/resources/image/bp/4.html>

Laboratórna diagnostika a liečba

Claubergova pôda obsahujúca teluricitán je diagnostická a selektívna pre zachytenie korynebaktérií. *C. diphtheriae* rastie v charakteristických kolóniách s hnedým „halo“ efektom. Rast baktérie v rôznych fázach vo forme kolónií typu mitis, gravis a intermedius sa dával do súvislosti s virulenciou kmeňa. Neexistujú dôkazy potvrdzujúce toto tvrdenie. Toxigenicitu kmeňa *C. diphtheriae* je možné stanoviť precipitačným testom (Elekov test) alebo neutralizačným testom v pokuse na zvierati. Stanovenie antitoxickej imunity jedinca je možné určiť in vivo intradermálnym testom (Schickov test) alebo stanovením antitoxických protilátok metódou ELISA. V prípade klinického ochorenia (záškrtu) je potrebná komplexná terapia – ošetrovateľská starostlivosť, antitoxická liečba a antibiotická liečba. Antibiotiká (penicilín, erytromycín, gentamycín) slúžia na eradikáciu baktérií a pri klinickom ochorení zabezpečujú likvidáciu toxigénnych kmeňov (zabraňujú tak zhoršovaniu stavu pacienta). Voľný toxín je možné neutralizovať podaním antitoxínu. Na nervové zakončenia naviazaný toxín nie je možné neutralizovať.

Ostatné korynebaktérie

Ochorenia vyvolané ostatnými korynebaktériami zaŕňajú septikémiu, endokarditídu, infekcie rán, močových a dýchacích ciest (vrátane diftérie).

C. urealyticum je patogén izolovaný najmä z močových ciest. Produkuje veľké množstvo ureázy a spôsobuje tak alkalizáciu moča, čo vedie k tvorbe kameňov v močových cestách. Rizikovými faktormi pre vznik infekcie sú imunosupresia, predchádzajúca liečba antibiotikami, poruchy urogenitálneho traktu alebo inštrumentálne zákroky v močovom trakte.

C. pseudotuberculosis, *C. ulcerans* môžu byť nositeľmi génu pre difterický toxín. Rizikovými faktormi pre vznik infekcií vyvolaných *C. ulcerans* sú konzumácia surového mlieka a iných produktov z kravského alebo kozieho mlieka alebo expozícia kolonizovaným zvieratám (vrátane domácich psov a mačiek).

C. jeikeum je oportúnny patogén hlavne u imunokompromitovaných osôb, u pacientov s hematologickými poruchami a u ľudí s intravaskulárnymi katétami. Dlhodobá hospitalizácia, chemoterapia alebo intravenózne katétre zvyšujú riziko vzniku ochorenia (okolo 40% hospitalizovaných pacientov môže mať kožu kolonizovanú týmito korynebaktériami).

Terapia infekcií je problematická, pretože mnoho kmeňov je rezistentných na antibiotiká. Pacienti infikovaní rezistentnými kmeňmi sú liečení vankomycínom.

Ostatné koryneformné baktérie

Koryneformné baktérie sú grampozitívne paličky, majú nepravidelný tvar, kolonizujú človeka a môžu vyvolať infekcie.

Arcanobacterium – vyvoláva faryngitídu podobnú streptokokovej („scarlet fever-like“).

Rothia mucilaginosa – môže adherovať na poškodené srdcové chlopne a vyvolať endokarditídu.

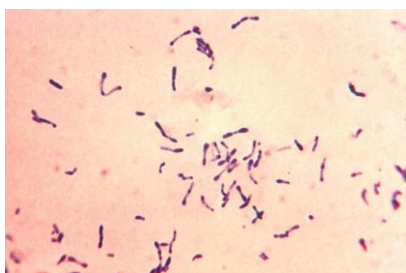
Tropheryma whippelii – vyvoláva Whippleovu chorobu (artralgia, hnačka, bolesť brucha, strata hmotnosti, lymfadenopatia a zvýšená pigmentácia kože). Diagnostika je problematická, pretože kultivácia je obvykle negatívna (na potvrdenie diagnózy sa využíva PCR).

Liečba – podáva sa penicilín a streptomycín parenterálne dva týždne, následne dlhodobo trimetoprim-sulfametoxazol.

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopia *C. diphtheriae*

Zafarbite fixovaný preparát z kultúry *C. diphtheriae* podľa Grama, mikroskopujte.



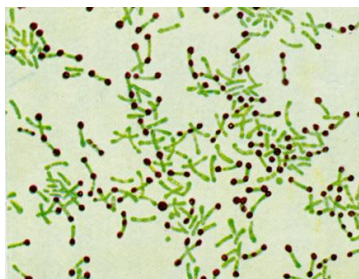
Obr. 50. *C. diphtheriae* – farbenie podľa Grama.

<http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/B.cereus.html>

C. diphtheriae v mikroskopickom obraze sú viditeľné ako kyjakovité paličky v nepravidelnom usporiadaní (ako palisády, „písmená čínskej abecedy“).

Zafarbite fixovaný preparát z kultúry *C. diphtheriae* podľa Alberta, mikroskopujte.

U *C. diphtheriae* je možné identifikovať metachromatické telieska (polyfosfátové granuly, tzv. Ernst-Babesove granuly). Termín „metachromatický“ označuje odlišnosť farby intracelulárnych fosfátových granúl v porovnaní so zvyškom bunky.



Obr. 51. *C. diphtheriae* – farbenie podľa Alberta.

<http://textbookofbacteriology.net/diphtheria.html>

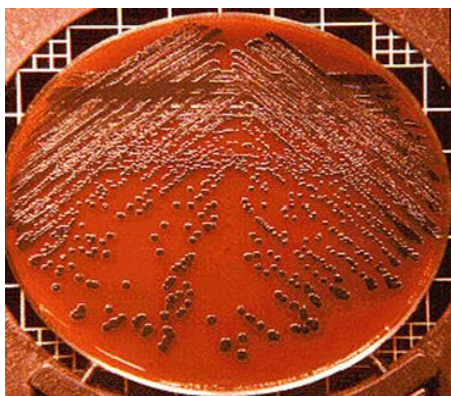
B. Kultivácia *C. diphtheriae* a *C. pseudodiphtheriticum*

C. diphtheriae a *C. pseudodiphtheriticum* na krvnom agare – popíšte veľkosť, tvar a farbu kolónií.

C. diptheriae rastie vo forme suchých kolónií (2-4 mm) s nepravidelnými okrajmi a lúčovito rozbrázdneným povrchom, obvykle sú obklopené úzkou zónou úplnej hemolýzy (typ gravis), alebo vo forme vypuklých kolónií s hladkým povrchom a ostro ohraničenými okrajmi (typ mitis). Malé kolónie (1 mm), ploché, suché a bez hemolýzy sú typické pre typ intermedius. *C. pseudodiptheriticum* vytvára biele, hladké matné kolónie bez hemolýzy.

***C. diptheriae* na pôde so soľami telúru – popíšte veľkosť, tvar a farbu kolónií.**

V praxi sa na kultiváciu *C. diptheriae* používajú selektívne pôdy so soľami telúru (Claubergova pôda). *C. diptheriae* je tolerantné k soliam telúru (dochádza k ich redukcii), kolónie na teluričitanovej pôde sú čierne, lesklé.



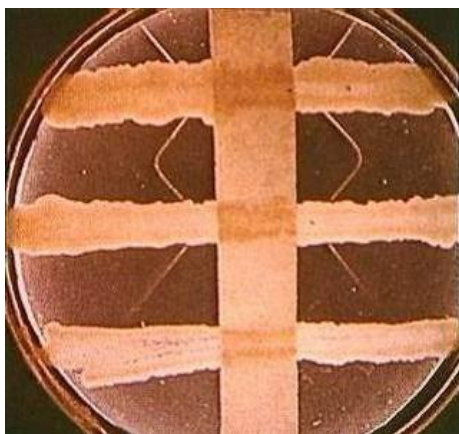
Obr. 52. *C. diptheriae* – kultivácia na pôde so soľami telúru.

<http://microblog.me.uk/268>

C. Produkcia toxínov

Stanovenie toxigenicity *C. diptheriae* (imunodifúzna metóda-princíp).

In vitro sa produkcia difterického toxínu stanovuje pomocou Elekovho testu. Princípom metódy je imunodifúzia v agarovom géli.



Obr. 53. Elekov test – viditeľné precipitačné línie.

<http://quizlet.com/23990401/med-micro-b2-pt-1-upper-respiratory-tract-infections-flash-cards/>

Kazuistika

78-ročný muž s hypotenziou bol hospitalizovaný pre intenzívnu bolesť hlavy trvajúcu 4 hodiny. Pri vyšetrení boli zistené subarachnoidálne hemorágie a hydrocefalus. Pacientovi bol zavedený ventrikulo-atriálny shunt. Týždeň po operácii sa u pacienta objavila horúčka. Hemokultivácia a kultivačné vyšetrenie tekutiny odobratej zo shuntu bola pozitívna na *C. jeikeum*.

Ktoré rizikové faktory sú spojené so vznikom infekcií vyvolaných *C. jeikeum*?

Aká liečba by mala byť indikovaná pri infekciách vyvolaných *C. jeikeum*.

Kazuistika

63-ročný neočkovaný muž 2 dni po týždňovej zahraničnej ceste vyhľadal lekára pre bolesti v hrdle a ťažkosti pri prehĺtaní. Bola indikovaná perorálna liečba antibiotikami. Po ďalších dvoch dňoch sa u pacienta objavili problémy s dýchaním, potenie, nauzea, vracanie. Pretrvávali problémy pri prehĺtaní. Auskultačne bolo zistené skrátenie dýchania na ľavej strane, bola zväčšená epiglottis, RTG hrudníka ukázalo infiltráty v pľúcach. Laryngoskopický nález preukázal infiltráty na tonzilách, zadnej stene faryngu a na podnebí. Pacient bol prijatý na jednotku intenzívnej starostlivosti, liečený azitromycínom, ceftriaxonom a steroidmi. Po 4 dňoch bola zistená hypotenzia a horúčka. Kultivačné vyšetrenie na dôkaz *C. diphteriae* bolo negatívne. Po 8 dňoch RTG vyšetrenie potvrdilo infiltráty na pľúcnych bázach obojstranne, na supraglotických štruktúrach sa vytvorila pseudomembrána. Kultivačné vyšetrenie bolo opäť negatívne, ale PCR vyšetrením sa zistila prítomnosť génu pre difterický exotoxín. Aj napriek intenzívnej liečbe sa pacientov stav zhoršoval a na 17 deň hospitalizácie došlo ku kardiálnym komplikáciám a pacient zomrel.

Aké sú rizikové faktory pre vznik diftérie u neočkovaných pacientov?

Aké sú účinky difterického toxínu?

Ktoré kultivačné médiá sa používajú na kultiváciu *C. diphteriae*?

Listérie

Rod: *Listeria*
druh: *monocytogenes*
ivanovii

Charakteristika

Rod listéria zahŕňa 10 druhov, patogénne sú *L. monocytogenes* (ľudský patogén) a *L. ivanovii* (zvierací patogén). Listérie sú grampozitívne, fakultatívne anaeróbne paličky, obsahujú lipopolysacharid (LPS) s endotoxínovou aktivitou. Sú nesporulujúce, kataláza-pozitívne, na krvnom agare vytvárajú β -hemolýzu. Pohyblivé sú pri izbovej teplote (20°C).

Patogénny potenciál a imunita

Listéria je fakultatívne intracelulárny patogén. Človek sa najčastejšie nakazí od infikovaných zvierat (zoonóza). Infekcia u ľudí vznikne po ingescii zvieratami kontaminovaných surových potravín (mlieko, zelenina). Listérie odolávajú pôsobeniu proteolytických enzýmov, žalúdočnej kyseliny a žlčovým soliam, adherujú na hostiteľské bunky, penetrujú do vnútra. V kyslom prostredí fagolyzozómov dochádza k produkcii cytolyzínu (listeriolysín O) a fosfolipázy C, ktoré zabezpečia uvoľnenie baktérií do cytoplazmy, kde prebieha množenie. Humorálna imunita nezohráva významnú úlohu v obrane proti infekcii, kontrolu infekcie zabezpečuje bunková imunita.

Ochorenia

Infekcie vyvolané listériami sa prejavujú najmä u imunosuprimovaných pacientov, starších ľudí, tehotných žien a novorodencov. U imunokompromitovaných a starších ľudí spôsobujú meningitídu alebo sepsu. Baktérie môžu kolonizovať genitálny trakt žien a vyvolať perinatálnu infekciu novorodenca – novorodenckú meningitídu. Pri primoinfekcii tehotnej ženy môže dôjsť k intrauterinnej infekcii plodu a k jeho odumretiu, alebo sa dieťa narodí s výrazným poškodením orgánov a s mnohopočetným granulómami – granulomatosis infantiseptica.



Obr. 54. Granulomatosis infantiseptica –hnisavé noduly a papuly.

<http://www.studyblue.com/notes/note/n/purulent-papules-or-nodules/deck/1125778>

Laboratórna diagnostika a liečba

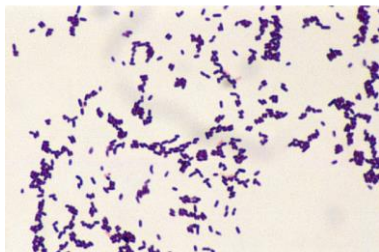
Diagnóza sa stanovuje na základe kultivácie na krvnom agare s chladovým obohatením a dôkazom pohyblivosti pri kultivácii pri izbovej teplote. Liekom voľby je ampicilín.

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopický dôkaz *L. monocytogenes*

Mikroskopujte preparát z čistej kultúry *L. monocytogenes* zafarbený podľa Grama.

L. monocytogenes je drobná grampozitívna palička, v preparátoch pripravených z klinických vzoriek sú často viditeľné ako kokobacily.

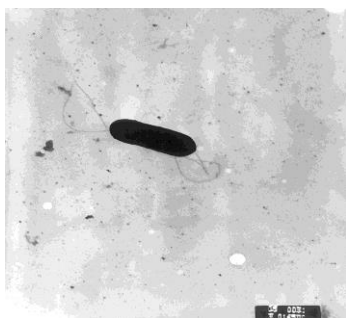


Obr. 55. *L. monocytogenes* – farbenie podľa Grama.

<http://www.msevens.com/cnsinfections/listeria.html>

Zhotovte natívny preparát z čistej kultúry *L. monocytogenes* kultivovanej pri teplote 25°C – popíšte pohyb.

V natívnom preparáte má *L. monocytogenes* (kultivovaná v bujóne pri izbovej teplote) charakteristický kotrmelcovitý pohyb (baktérie majú 1-4 bičiky). Pohyblivosť je rozlišovacím znakom listérií.



Obr. 56. Bičiky - *L. monocytogenes*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/74/Listeria_monocytogenes_PHIL_2287_lores.jpg

Zhotovte natívny preparát z čistej kultúry *L. monocytogenes* kultivovanej pri teplote 37°C – popíšte pohyb.

L. monocytogenes kultivovaná pri izbovej teplote je pohyblivá, charakteristický je kotrmelcový pohyb („end-over-end“). Pri teplote 37°C sa pohyblivosť stráca.

B. Kultivácia *L. monocytogenes*

L. monocytogenes na krvnom agare – popíšte veľkosť a morfológiu kolónií a typ hemolýzy.

Listérie na krvnom agare vytvárajú drobné, sivé hladké kolónie, virulentné kmene tvoria úzku β -hemolýzu, ktorá je často viditeľná až po zotretí kolónie z povrchu kultivačnej pôdy.



Obr. 57. *L. monocytogenes* na krvnom agare.

http://fundacionio.org/img/bacteriology/img/Listeria_monocytogenes_01.JPG

Kazuistika

73-ročný muž s reumatoidnou artritídou hospitalizovaný pre poruchy vedomia, 3 dni trvajúcu bolesť hlavy, nauzeu a vracanie. Pacient mal stuhnutú šiju, horúčku, tachykardiu a vysoký krvný tlak. Pre podozrenie na meningitídu bol odobratý likvor na mikrobiologické vyšetrenie. Mikroskopické vyšetrenie likvoru bolo negatívne, kultivácia likvoru a hemokultúra bola s pozitívnym výsledkom – *L. monocytogenes*. Pacient bol liečený vankomycínom, stav sa zlepšil, následne bol prepustený domov.

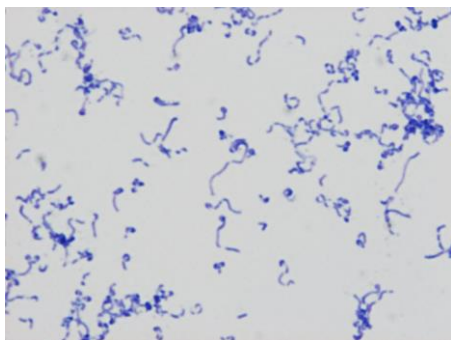
Ktoré skupiny pacientov patria medzi rizikové v súvislosti s infekciami vyvolanými *L. monocytogenes*?
 Aké sú faktory virulencie *L. monocytogenes*?
 Aký je potencionálny zdroj infekcie vyvolanej *L. monocytogenes*?

Erysipelotrix

Rod: *Erysipelothrix*
druh: *rhusiopathiae*

Charakteristika

Grampozitívna, nesporulujúca, mikroaerofilná palička. Produkuje neuraminidázu (prichytenie a penetrácia) a puzdro (ochrana pred fagocytózou). Kolonizuje divé aj domáce zvieratá, od ktorých sa človek môže nakaziť (zoonóza).



Obr. 58. *Erysipelothrix rhusiopathiae* – farbenie podľa Grama.

<http://www.gefor.4t.com/concurso/bacteriologia/erhusiopathiae5.jpg>

Tabuľka 11. Listéria a erysipelotrix – charakteristika.

	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívne paličky (kokobacily) - kataláza - pozitívne - fakultatívne interacelulárne baktérie - internalíny (prichytenie) - listeriolyzín O (hemolyzín) 	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívne paličky (vytvárajú dlhé vlákna) - kataláza - negatívne - neuraminidáza (prichytenie, penetrácia) - púzdro
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - imunokompromitovaní, starší, tehotné ženy, novorodenci - meningitída - sepsa - granulomatosis infantiseptica 	<ul style="list-style-type: none"> - kožné infekcie - sepsa - endokarditída
Diagnostika	mikroskopia: - pohyblivé pri izbovej teplote (kotrmelcový pohyb) kultivácia : - 3- 4 dni - rast pri 4°C - rast pri vysokej koncentrácii soli - β-hemolýza na krvnom agare	Mikroskopia: - dlhé vlákna Kultivácia: - krvný agar - čokoládový agar - inkubácia v atmosfére s 5-10% CO ₂
Prevencia	- dostatočná tepelná úprava jedla	- ochrana kože pri manipulácii so zvieratami a živočíšnymi produktami
Liečba	ampicilín, penicilín (v kombinácii s gentamycínom)	<ul style="list-style-type: none"> - penicilín - ciprofloxacín - klinadamycín - ceftriaxon - imipenem

Ochorenia

Infekcie u ľudí môžu mať niekoľko foriem:

- **erysipeloid** (lokalizovaná kožná infekcia – pozor, nezamieňať so streptokokovým erysipelom!)
- **generalizované kožné ochorenie**
- **septikémia** (je zriedkavá, ak sa vyskytne, tak je často spojená s endokarditídou).



Obr. 59. Erysipeloid.

<http://www.health-pictures.com/erysipeloid.htm#.Ur18AqyiM24>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika sa opiera o nález tenkých grampozitívnych baktérií v klinickom materiále, kultivácia trvá tri dni. Absencia motility a negatívna katalázová reakcia slúžia na odlišenie od listérií. Liekom voľby je penicilín, u pacientov alergických na penicilín sa podáva ciprofloxacín alebo klindamycín (kožné infekcie), pri diseminovaných infekciách je vhodný ceftriaxon alebo imipenem.

Kazuistika

46-ročný muž pracujúci ako mäsiar, s anamnestickými údajmi o zvýšenej konzumácii alkoholu, bol prijatý do nemocnice s erytematóznymi vyrážkami na hornej časti tela a s bolesťami v ramenných kĺboch. Pacient udáva 4 týždne trvajúcu zimnicu a triašku. Fyzikálne vyšetrenie odhalilo hepatosplenomegáliu, systolický šelest, kalcifikácie na aortálnej chlopni a miernu regurgitáciu. Vegetácie na chlopniach neboli zistené. Pacientovi bolo odobratých 5 vzoriek krvi na hemokultivačné vyšetrenie, všetky boli pozitívne s nálezom *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Bol indikovaný chirurgický zákrok na náhradu chlopne, peroperačne sa zistila prítomnosť abscesov v okolí chlopne. Po chirurgickom zákroku bol pacient liečený klindamycínom a penicilínom, došlo k úplnému uzdraveniu.

Aké sú rizikové faktory pre vznik ochorení vyvolaných *E. rhusiopathiae*?
Aký je potencionalný zdroj infekcie vyvolanej *Erysipelothrix rhusiopathiae*?

OTÁZKY

1. Ktoré všeobecné vlastnosti majú korynebaktérie?
2. Aká je patogenéza a klinické prejavy záškrtu?
3. Aký materiál sa odoberá pri podozrení na záškrť?
4. Aký má vzhľad *C. diphtheriae* v mikroskopických preparátoch?
5. Ako sa kultivuje pôvodca záškrtu a čím sú charakteristické jednotlivé biotypy?
6. Ako sa dokazuje toxicita *C. diphtheriae*?
7. Aká je ochrana pred záškrťom a ako sa toto ochorenie lieči?
8. Aké sú klinické prejavy listeriózy a ako sa infekcia šíri?
9. Aký má vzhľad *L. monocytogenes* v mikroskopických preparátoch?
10. Ako sa kultivuje *L. monocytogenes*?
11. Aký význam má mikroskopia natívneho preparátu z kultúry *L. monocytogenes*?
12. Aký má vzhľad *E. rhysiopathiae* v mikroskopických preparátoch?
13. Aký je rozdiel medzi erysipelom a erysipeloidom?
14. Ako sa lieči listerióza?
15. Opíšte infekcie vyvolané *L. monocytogenes*.
16. Ako sa lieči erysipeloid?

1.5 Grampozitívne anaeróbne sporulujúce paličky

Klostridiá

Rod: *Clostridium*
druh: *perfringens*
tetani
botulinum
difficile

Charakteristika

Príslušníci rodu *Clostridium* sú primárne alebo podmienenčne patogénne mikroorganizmy. Niektoré z nich spôsobujú smrteľné ochorenia spôsobené toxínmi – tetanus (*Clostridium tetani*), botulizmus (*Clostridium botulinum*), plynovú gangrénu (*Clostridium perfringens*), intoxikáciu z potravín alebo pseudomembranóznu kolitídu (*Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*). Klostridiá sú grampozitívne sporulujúce paličky, striktne anaeróbne, vyskytujúce sa ako saprofyty v prírode (*C. tetani*, *C. botulinum*), niektoré aj ako súčasť fyziologickej flóry v gastrointestinálnom trakte človeka alebo zvierat. Pri svojom anaeróbnom metabolizme produkujú často plyn a odpudzujúci zápach.

Clostridium perfringens

Patogénny potenciál a imunita

Clostridium perfringens je grampozitívna neopuzdrená nepohyblivá palička, vytvárajúca spóry. Vyskytuje sa v pôde a vode kontaminovanej fekáliami. U človeka môže asymptomaticky kolonizovať tráviaci trakt alebo vyvolávať pomerne široké

spektrum ochorení. Často sa nachádza v infikovaných ranách bez dobrého zásobenia krvou, obvykle spolu s inými mikroorganizmami. Pomnožuje sa a metabolizuje v anaeróbnom prostredí, pričom vytvára plyn a syntetizuje exoenzy. Produkuje letálne toxíny (alfa, beta, epsilon, iota).

Alfa toxín je produkovaný všetkými typmi *C. perfringens*. Je to lecitináza (fosfolipáza C), ktorá lyzuje erytrocyty, krvné doštičky, leukocyty a endotelové bunky. Vyvoláva tak masívnu hemolýzu, krvácanie, myonekrózu, bradykardiu a hypotenziu.

Beta toxín poškodzuje črevo, vyvoláva tvorbu nekróz až vznik nekrotizujúcej enteritídy.

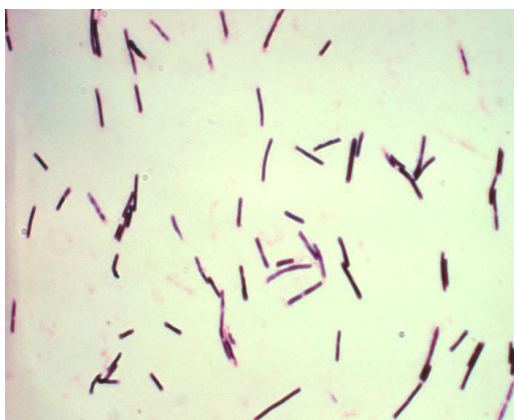
Epsilon toxín je protoxín aktivovaný trypsínom, zvyšuje permeabilitu ciev v stene tráviaceho traktu.

Iota toxín vyvoláva nekrózu a zvyšuje vaskulárnu permeabilitu.

Toxíny spôsobujú deštrukciu tkaniva, napomáhajú šíreniu infekcie, vytvoreniu anaeróbného prostredia, kolagenáza ničí kolagén cievnej steny a poškodzuje krvné zásobovanie tkaniva, vytvárajú prostredie vhodné na tvorbu nekróz svalov a vyvolávajú celkovú reakciu organizmu (zápal, horúčka, bolesť).

Clostridium perfringens (najmä typ A) produkuje termolabilný enterotoxín, ktorého aktivita sa zvyšuje pôsobením trypsínu. Toxín sa viaže na receptory epitelu v tenkom čreve (ileum, jejunum), poškodzuje membránovú permeabilitu s následnou stratou tekutín a iónov. Enterotoxín je superantigén, stimuluje aktivitu T-lymfocytov. Protilátky proti enterotoxínu sú často prítomné u dospelých, nie sú protektívne.

Nešpecifické imunitné mechanizmy proti baktériám sú neúčinné pri porušení krvného zásobenia a masívnej exogénnej infekcii. Špecifická antitoxická imunita je nedostatočná na zabránenie vzniku infekcie.



Obr. 60. *C. perfringens* – farbenie podľa Grama.

http://microbewiki.kenyon.edu/images/5/5e/Clostridium_perfringens.jpg

Ochorenia

Infekcie mäkkých tkanív

Klostrídiá anaeróbných traumatóz sú veľmi agresívne mikroorganizmy spôsobujúce rýchle šírenie infekcií prostredníctvom exotoxínov enzýmovej povahy. Do organizmu sa dostávajú pri poraneniach kontaminovaných spórmi z prostredia (pôda). Vyvolávajú poškodenie v devitalizovaných tkanivách. Svojimi enzýmami dokážu vytvoriť anaeróbne prostredie (elastáza ničí elastické vlákna cievnych stien). Spôsobujú klinický obraz plynovej gangrény, fasciitídy, myonekrózy. U imunokompromitovaných

pacientov (po chemoterapii, ožarovaní) sú možné perakútne prebiehajúce endogénne infekcie.



Obr. 61. Plynová gangréna vyvolaná *C. perfringens*.

<http://infectionnet.org/wp-content/uploads/2011/07/GasGangrene2.jpg>

Infekcie tráviaceho traktu

Otravy z jedla vyvolané klostrídiami majú krátku inkubačnú dobu (8-24 hodín), v klinickom obraze dominujú kŕče a vodnaté hnačky, pacienti obvykle nemajú horúčku, vracanie nie je typické. Ochorenie trvá zvyčajne 24 – 48 hodín. Infekcia vzniká po požití mäsa a mäsových produktov (hydina), ktoré sú kontaminované veľkým počtom (10^9) mikroorganizmov *C. perfringens* typu A.

C. perfringens typu C vyvoláva zriedkavé ochorenie známe ako nekrotizujúca enteritída

Laboratórna diagnostika a liečba

Pri podozrení na anaeróbne infekcie sa vyžaduje odber a transport materiálu (tkanivo, hnis) za anaeróbných podmienok. Suspektný je dôkaz sporulujúcich grampozitívnych paličiek v mikroskopickom preparáte. Vzorka sa kultivuje za anaeróbných podmienok, produkciu enzýmov je možné dokázať imunologickými metódami. Liečba infekcií mäkkých tkanív musí byť indikovaná bezodkladne, obvykle si vyžaduje radikálne chirurgické odstránenie nekrotických tkanív a podávanie antibiotík (vysoké dávky penicilínu). Profylakticky a terapeuticky je možné podať špecifické antisérum, možno využiť aj oxygénterapiu. Klostrídiami vyvolané otravy z jedla si obvykle nevyžadujú podávanie antibiotík, ochorenie je zvyčajne samolimitujúce.

Tabuľka 12. Klostrídie – prehľad ochorení.

Baktéria	Ochorenie
<i>Clostridium perfringens</i>	<p>INFEKČIE MÄKKÝCH TKANÍV Myonekróza – bolestivá rýchla deštrukcia svalového tkaniva, systémová progresia, vysoká mortalita Hnisavá myozitída – hromadenie hnisu vo svaloch, bez nekrózy, bez symptómov systémového ochorenia Celulitída – lokálny edém a erytém mäkkého tkaniva, obvykle nebolestivá</p> <p>GASTROENTERITÍDA Otrava z jedla – rýchly nástup, kŕče, vodnatá hnačka, bez teploty, bez vracania, samolimitujúce Nekrotizujúca enteritída – akútny priebeh, nekrotická deštrukcia jejuna, bolesť brucha, vracanie krvavá hnačka, peritonitída</p>
<i>Clostridium tetani</i>	<p>Generalizovaný tetanus - generalizované spazmy svalov, postihnutie autonómneho nervového systému (arytmie, kolísanie krvného tlaku, potenie, dehydratácia) Lokálny tetanus – lokalizované kŕče svalov v miest eprimárnej infekcie Novorodenecký tetanus – primárne postihuje kýpeť pupočníka, vysoká mortalita</p>
<i>Clostridium botulinum</i>	<p>Botulizmus z jedla – dvojité videnie, sucho v ústach, zápcha, bolesť brucha, progresia do ochabnutia periférnych svalov, chabá paralýza Detský botulizmus – zápcha, slabý plač, celkové neprospievanie, chabá paralýza svalov, zástava dýchania Ranový botulizmus – klinické príznaky rovnaké ako pri otrave z jedla, dlhšia inkubačná doba, menej gastrointestinálnych príznakov Inhalačný botulizmus – rýchly nástup, vysoká mortalita</p>
<i>Clostridium difficile</i>	<p>Postantibiotická hnačka – akútny priebeh, 5-10 dní po začatí antibiotickej liečby Pseudomembranózna kolitída – profúzna hnačka, kŕče, horúčka, pseudomembrány v čreve</p>

Kazuistika

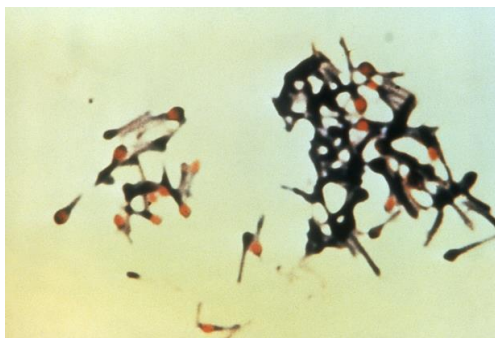
Do nemocnice sa postupne dostavilo na vyšetrenie 15 osôb, ktoré ochoreli po konzumácii hovädzieho mäsa na kukurici. Jedlo bolo zakúpené v jednej predajni lahôdok. Po medializácii tohto prípadu sa prihlásilo ďalších 156 ľudí s rovnakými symptómami po konzumácii toho istého jedla. U všetkých sa príznaky objavili do 12 hodín po konzumácii uvedeného jedla, pacienti mali kŕče, bolesti brucha, hnačku. Vyšetrením v uvedenej prevádzke sa zistilo, že majitelia zakúpili 150 kilogramov soleného hovädzieho mäsa, z ktorého pripravili inkriminované jedlo, ktoré varili asi 3 hodiny. Následne jedlo nechali vychladnúť pri izbovej teplote a potom uskladnili v chladničke. O 4 dni vybrali jedlo z chladničky, zohriali ho pri teplote 49°C a podávali zákazníkom. Kultivačným vyšetrením vzoriek odobratých z jedla sa zistilo, že 1gram pokrmu obsahoval viac ako 10^5 baktérií *C. perfringens*.

Aké opatrenia je potrebné dodržať pri uskladňovaní potravín?
Aká je liečba gastrointestinálnych infekcií vyvolaných *C. perfringens*?
Aká je inkubačná doba u gastrointestinálnych infekcií vyvolaných *C. perfringens*?

Clostridium tetani

Patogénny potenciál a imunita

Clostridium tetani je grampozitívna sporulujúca palička. Spóry sú uložené terminálne, v mikroskopickom preparáte vytvárajú typický obraz popisovaný ako rakety na squash alebo paličky na bubon.



Obr. 62. *C. tetani*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c7/Clostridium_tetani_01.png

Baktérie veľmi rýchlo hynú, ak sú vystavené kyslíku, spóry prežívajú v nepriaznivých podmienkach. *Clostridium tetani* je neinvazívny mikroorganizmus, produkuje dva toxíny: **tetanolyzín** – oxygénlabilný hemolýzín a **tetanospazmín** – plazmidom kódovaný termolabilný neurotoxín (exotoxín jediného antigénneho typu). Plazmid nesúci gén pre tetanospazmín je nekonjugatívny (netoxické *C. tetani* nemôže byť konvertované na toxické). Tetanospazmín je A-B toxín. Inaktivuje proteíny regulujúce

uvoľňovanie inhibičných neurotransmiterov, čo vedie k neregulovanej excitačnej synaptickej aktivite na motorických neurónoch. Väzba toxínu na cieľové štruktúry je ireverzibilná, výsledkom jeho pôsobenia je **spastická paralýza**.

Klinický význam tetanolyzínu nie je objasnený, pretože je inhibovaný kyslíkom a sérovým cholesterolom.

Nešpecifické **imunitné mechanizmy** sú neúčinné pri ochrane pred účinkom toxínu. Ochorenie tiež nezabezpečí dostatočný antigénny stimul na vytvorenie špecifickej imunity po ochorení.

Ochorenia

C. tetani sa nachádza v pôde, môže kolonizovať tráviaci trakt živočíchov, vrátane človeka. Vegetatívne formy baktérií sú veľmi citlivé na prítomnosť kyslíka, rýchlo sporujú. Spóry dlhodobo prežívajú v prírode. Ochorenie je relatívne zriedkavé. Inkubačný čas je od niekoľkých dní až do niekoľko týždňov, v závislosti od vzdialenosti primárneho poranenia od centrálného nervového systému.

Najznámejšou formou je **generalizovaný tetanus** (trismus žuvacích svalov, sardonický úsmev, opistotonus vyvolaný spazmami chrbtového svalstva), ďalšími príznakmi sú srdcové arytmie, výkyvy krvného tlaku, profúzne potenie a dehydratácia. **Lokalizovaný tetanus** sa prejavuje stuhnutím lokálnych svalových skupín v mieste primárnej infekcie. Osobitnou formou lokálneho tetanu je **cefalický tetanus** (primárnym miestom infekcie je hlava). **Novorodenecký tetanus** vzniká po infikovaní pupočníkového kýpťa.



Obr. 63. Otvorená rana infikovaná *C. tetani*.

<http://microbewiki.kenyon.edu/images/2/22/Wound.jpg>

Laboratórna diagnostika a liečba

Identifikácia baktérií v klinických vzorkách nie je vždy nevyhnutná pre stanovenie diagnózy. Tetanus sa obvykle diagnostikuje na základe klinického obrazu a anamnézy. Mikroskopicky je možné dokázať prítomnosť grampozitívnych paličiek typického tvaru v rane. Kultivácia za anaeróbných podmienok a dôkaz toxínu sa v praxi využívajú len sporadicky (kultivácia je pozitívna len približne u 30% pacientov, v klinických vzorkách sa nachádza len veľmi málo baktérií, pomalý rast baktérií, rýchlo hynú v prostredí s kyslíkom). V prípade úspešnej kultivácie sa robí neutralizačný test s tetanovým antitoxínom na laboratórnych zvieratách, ktorý umožní konečnú identifikáciu toxínu. Terapeuticky sa používajú antibiotiká na debacilizáciu a antitoxín na neutralizáciu (pasívna imunizácia ľudským imunoglobulínom proti toxínu *C. tetani*).

Na eradikáciu baktérií sa používa penicilín alebo metronidazol. Antibiotiká zabránia ďalšej produkcii toxínu, ale neovplyvnia klinické príznaky vyvolané už naprodukovaným a internalizovaným toxínom. Často je potrebná podporná intenzívna starostlivosť. Na aktívnu imunizáciu sa používa anatoxín.



Obr. 64. Opistotonus.

<http://en.citizendium.org/images/8/8d/SoldierTetanus.gif>

Kazuistika

86-ročný muž vyhľadal lekárske ošetrovanie pre poranenie na pravej ruke, do ktorej sa mu pred 3 dňami zapichla trieska počas práce v záhrade. Pacientovi nebola podaná vakcína proti tetanu, ani antitetanický imunoglobulín. Po 7 dňoch pacient dostal faryngitídu. Po ďalších troch dňoch opäť navštívil lekára, udával ťažkosti pri rozprávaní a dýchaní, problémy pri prehltaní. Udával bolesti pri dýchaní, bol dezorientovaný. Pacient bol hospitalizovaný s diagnózou akútnej mozgovej príhody. Na štvrtý deň po prijatí do nemocnice sa u pacienta objavilo stuhnutie šije a respiračné zlyhanie. Bola indikovaná tracheotómia a riadená mechanická ventilácia. Pacient bol prevezený na jednotku intenzívnej starostlivosti, kde bol diagnostikovaný tetanus. Aj napriek intenzívnej liečbe tetanickým toxoidom a antitetanickým imunoglobulínom pacient po štyroch týždňoch zomrel.

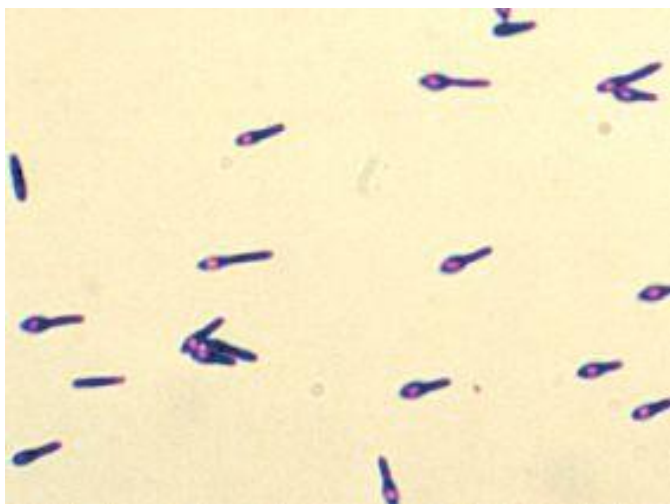
Ako došlo k infekcii u pacienta?
Aká forma tetanu vznikla u pacienta?
Ktoré antibiotiká sa používajú na liečbu tetanu?
Ako sa diagnostikuje tetanus?

Clostridium botulinum

Patogénny potenciál a imunita

Clostridium botulinum je grampozitívna sporulujúca pohyblivá palička s oválnymi, subterminálne uloženými spórmi. Vegetatívne bunky v anaeróbnom prostredí produkujú jeden z toxínov (A, B, C1, C2, D, E, F, G), vznik ochorení u ľudí sa obvykle spája s typmi A, B, E a F. Schopnosť tvoriť toxíny typu C a D je prenášaná infekciou mikroorganizmu bakteriofágom (lyzogénna konverzia). Proteínové exotoxíny sú produkované v neaktívnej forme, obvykle exogénne, aktivujú sa proteolytickými enzýmami v tráviacom trakte po prijatí toxínu v potrave. Botulotoxín na

nervovosvalových spojeniach inaktivuje proteíny regulujúce uvoľňovanie acetylcholínu. Acetylcholín je potrebný na svalovú excitáciu, výsledkom pôsobenia botulotoxínu je teda klinická manifestácia ochorenia vo forme chabej paralýzy. U detského botulizmu spóry germinujú v čreve a následne vegetatívne bunky produkujú toxín intrainestinálne. Ten je absorbovaný cez stenu čreva a spôsobuje chabú paralýzu. Detský botulizmus môže byť vyvolaný spórmi prítomnými napríklad v mede. Imunita po ochorení je nedostatočná a ochorenie nezabezpečí dostatočný antigénny stimul a ochranu pred budúcou intoxikáciou.



Obr. 65. *C. botulinum*.

http://www.extension.org/sites/default/files/w/b/b4/Clostridium_botulinum_small.jpg

Ochorenia

Spóry *C. botulinum* sú prítomné v pôde a vo vode. Botulotoxín je termolabilný, je inaktivovaný pôsobením teploty 80 °C po dobu 20 minút. Typicky je produkovaný v domácich mäsových a zeleninových konzervách, alebo v údených mäsových výrobkoch (klobásový jed). Je to jeden z najsilnejších toxínov a má potenciál byť použitý ako nástroj bioterorizmu (kontaminácia vodných zdrojov, aerosolové bomby).

Rozoznávame štyri klinické formy botulizmu:

- 1. Klasický botulizmus (otrava z jedla):** súvisí s požitím domácich konzerv kontaminovaných botulotoxínom (toxíny A a B) alebo s konzumáciou rybacích konzerv (toxín E). Inkubačný čas je 1 až 3 dni. Na začiatku sa vyskytuje neostré videnie, dilatácia zreníc, sucho v ústach, zápcha a bolesť brucha. Postupne sa vyvíja chabá paralýza. Smrť nastáva v dôsledku paralýzy dýchacích svalov.
- 2. Detský botulizmus:** spóry germinujú v čreve a následne vegetatívne bunky produkujú toxín intrainestinálne. Ten je absorbovaný cez stenu čreva a spôsobuje chabú paralýzu. Detský botulizmus môže byť vyvolaný spórmi prítomnými v mede alebo v sušenom mlieku (môže vzniknúť aj po požití spórmi kontaminovanej pôdy a prachu). Je považovaný za príčinu viacerých prípadov syndrómu náhleho úmrtia dieťaťa (SDIS - z angl. sudden infant death syndrome).
- 3. Inhalačný botulizmus:** vzniká po inhalácii botulotoxínu, ochorenie má rýchly nástup a vysokú úmrtnosť.
- 4. Botulizmus v rane:** klinické prejavy sú rovnaké ako pri klasickom botulizme, inkubačný čas môže byť dlhší (zvyčajne 4 alebo viac dní).



Obr. 66. Detský botulizmus.

http://bepast.org/docs/photos/botulinum/infant_botulism.jpg

Laboratórna diagnostika a liečba

Klasický botulizmus sa diagnostikuje na základe potvrdenia toxínu v požitej potrave, v sére pacienta, v stolici alebo v žalúdočnej šťave. Detský botulizmus a botulizmus v rane sú diagnostikované pomocou dôkazu toxínu v krvi, v stolici a v rane, alebo kultivačne (pôdy s obsahom vaječných žĺtkov), kedy môžeme dokázať prítomnosť baktérií v stolici alebo v rane. Biologické vzorky od pacientov sú kontaminované inými mikroorganizmami, preto môžu byť zahriate na 80°C počas desiatich minút. Spóry sú termorezistentné, germinujú po naočkovaní takto upraveného biologického materiálu na nutrične obohatených kultivačných médiách pre anaeróbnú kultiváciu. Dôkaz produkcie toxínu sa robí pokusom na zvierati v špecializovaných laboratóriách.

Liečba botulizmu vyžaduje adekvátnu podporu dýchania, elimináciu baktérií z tráviaceho traktu (výplach žalúdka, metronidazol, penicilín) a podanie antitoxínu (na inaktiváciu nenaviazaného toxínu, používa sa trivalentný antitoxín proti toxínom A, B a F). Zohriatie potravy na 60 až 100°C inaktivuje všetky typy botulotoxínu. Zničené spóry v potrave je technicky náročné, najlepšou prevenciou je zabrániť kontaminácii jedla spórmi.



Obr. 67. *C. botulinum* – kolónie na žltkovom agare.

<http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=38>

Tabuľka 13. *C. tetani* a *C. botulinum* – charakteristika.

	<i>Clostridium tetani</i>	<i>Clostridium botulinum</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívna palička - tvorí spóry - extrémna citlivosť na kyslík - tetanospazmín inaktivuje proteíny regulujúce uvoľňovanie inhibičných neurotransmiterov - spastická paralýza svalov - postihnutie autonómneho nervového systému - ochorenie nezanecháva imunitu 	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívna palička - tvorí spóry - produkcia toxínov (A-G) - toxíny A,B,E,F sú najčastejšie spojené s ochoreniami u ľudí - botulotoxín blokuje acetylcholínu - chabá obrna svalov
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - na základe klinických príznakov - mikroskopia a kultivácia majú obvykle malý význam 	<ul style="list-style-type: none"> - dôkaz toxínu v potrave, v sére, v stolici, v žalúdočnej šťave - detský botulizmus: kultivácia baktérií zo stolice
Prevenia	<ul style="list-style-type: none"> - očkovanie: 3 dávky tetanického toxoidu, - booster dávka každých 10 rokov 	<ul style="list-style-type: none"> - inaktivácia toxínu zahriatím potravy na 60-100°C po dobu 10 minút - zábrana germinácie spór v potravinách (kyslé pH, vysoký obsah cukru), uskladnenie v chlade (4°C a menej)
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - penicilín - metronidazol - antitoxín - tetanický toxoid 	<ul style="list-style-type: none"> - penicilín - metronidazol - antitoxín - podpora ventilácie

Kazuistika

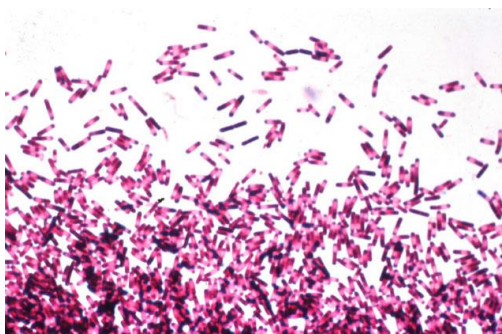
10-týždňové dieťa s anamnézou 4-týždňovej zápchy bolo prijaté do nemocnice pre dva dni trvajúce ťažkosti pri dojčení a problémy pri prehltaní. Dieťa bolo podráždené, tvárová mimika vymiznutá, prítomná celková svalová ochabnosť a obstipácia. Pre respiračné zlyhanie bola indikovaná umelá ventilácia. Na 29. deň po nástupe klinických príznakov bol diagnostikovaný botulizmus, kultiváciou stolice bolo potvrdené *C. botulinum*, produkujúce toxín typu B. Dieťa bolo liečené protilátkami proti toxínu podávanými intravenózne, po dvadsiatich dňoch bolo zdravé prepustené domov.

Aké sú možné príčiny vzniku detského botulizmu?
Aký je účinok botulotoxínu?
Ako sa lieči botulizmus?

Clostridium difficile

Patogénny potenciál a imunita

C. difficile je grampozitívna palička s veľkými, subterminálne uloženými spórmi. Produkuje dva typy toxínov. Toxín A je enterotoxín spôsobujúci poruchu vodného metabolizmu vody v čreve, toxín B je cytotoxín, ktorý vyvoláva deštrukciu buniek.



Obr. 68. *C. difficile* – farbenie podľa Grama.

<http://vaccinenewsdaily.com/wp-content/uploads/2013/06/Clostridium-difficile.jpg>

Ochorenia

C. difficile je súčasťou fyziologickej flóry človeka (kolonizuje črevo u asi 5% zdravých ľudí). Je podmienene patogénnym mikroorganizmom uplatňujúcim sa pri dysmikróbii navodenej širokospektrálnymi antibiotikami s následným premnožením klostríí v čreve. Ochorenie sa často vyskytuje v nemocniciach a u pacientov v terminálnych štádiách rôznych ochorení. *C. difficile* vyvoláva hnačky, u pacientov liečených širokospektrálnymi antibiotikami sa môže vyvinúť pseudomembranózna kolitída.

Tabuľka 14. *C. difficile* a *C. perfringens* – charakteristika.

	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívna palička - tvorí spóry - enterotoxín - cytotoxín - nemocničné prostredie - častá rezistencia na dezinfekciu a antibiotiká 	<ul style="list-style-type: none"> - grampozitívna palička - tvorí spóry - termolabilný enterotoxín vyvoláva vodnatú hnačku - enzýmy a toxíny vyvolávajú hemolýzu, poškodenie tkaniva, myonekrózu
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - kultivácia zo stolice - detekcia toxínov - detekcia génov pre produkciu toxínov v stolici 	<ul style="list-style-type: none"> - mikroskopia - kultivačný dôkaz
Prevencia	<ul style="list-style-type: none"> - prerušenie antibiotickej liečby - dôkladná dezinfekcia nemocničných izieb a ostatných priestorov 	<ul style="list-style-type: none"> - dôkladná starostlivosť o rany - profylaktické podávanie antibiotík
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - metronidazol - vankomycín - penicilín - chloramfenikol 	<ul style="list-style-type: none"> - penicilín - odstránenie nekrotických tkanív - oxygénerapia

Laboratórna diagnostika a liečba

Laboratórna diagnostika sa opiera o masívny výskyt *C. difficile* v monokultúre zo vzoriek stolice. Na kultiváciu sa používajú špeciálne diagnostické pôdy. Baktérie majú na kultivačných pôdach typický zápach (stajňa, konský moč). Dôkaz toxínu v stolici alebo z vykultivovaného kmeňa imunoenzymaticky ELISA testom alebo neutralizačným testom, je možné použiť na stanovenie rizika vzniku pseudomembranóznej kolitídy. Zachovanie prirodzenej mikroflóry v čreve (eumikróbia) je podmienkou úspešnosti nešpecifickej imunity v boji proti vzniku pseudomembranóznej kolitídy.

Grampozitívne sporulujúce paličky sú dobre citlivé na penicilín alebo chloramfenikol, u pseudomembranóznej kolitídy spôsobenej *C. difficile* je účinný aj vankomycín alebo metronidazol.

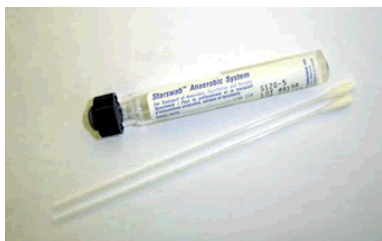
Úlohy na praktické cvičenia

A. Princípy anaeróbnej kultivácie

Odber materiálu

Na anaeróbnú kultiváciu sa odoberá tekutý materiál, prípadne excízia tkaniva, materiál sa umiestni do hermeticky uzatvorenej nádoby (striekačka s ihlou zapichnutou do korku, špeciálna skúmavka s anaeróbnou atmosférou, prípadne do Amiesovho média s aktívnym uhlím tak, aby nedošlo k styku odobratého materiálu s kyslíkom. Typ materiálu sa vyznačí na skúmavke. Odobratý materiál sa transportuje v transportnom

systeme pri teplote 4°C. Doba prežívania anaeróbnych baktérií pri správnom odbere a transporte je 24 hodín. Pri kontakte s kyslíkom maximálne 40 minút.



Obr. 69. Anaeróbne transportné médium.

<http://www.calgarylabservices.com/files/LabTests/MicrobiologyContainers/Anaerobe.gif>

Kultivácia

Materiál určený na anaeróbnú kultiváciu sa očkuje sa na VL agar (Veillonov) a na VL agar s antibiotikami. Používajú sa vysoko naliate pôdy, ktoré obsahujú redukujúce látky, znižujúce oxidačno-redukčný potenciál kultivačného média. Anaeróby rastú pri záporných hodnotách redox potenciálu, keď v prostredí prevládajú redukované látky. VL agar obsahuje nutričné zložky - mäsový extrakt a peptón. Kvasničný autolýzát a L-cystein poskytujú potrebný aminodusík, rastový uhlík pre metabolizmus baktérií. Kvasničný autolýzát je súčasne zdrojom vitamínov radu B. Chlorid sodný vytvára osmotické prostredie, glukóza je fermentovateľným cukrom a zdrojom energie. Inkubuje sa pri 37°C v anaeróbnej atmosfére. Výsledok sa odčítava po 24 až 48 hodinách, prípadne denne počas 5 dní. Pomnožovacou pôdou je VL bujón, ktorý sa po 48 hodinách vyočkuje na VL agar. VL bujón sa pred použitím musí regenerovať varom, vo vodnom kúpeli, aby sa odstránil prebytočný O₂.



Obr. 70. Systém pre anaeróbnú kultiváciu.

<http://extww02a.cardinal.com/us/en/distributedproducts/ASP/J3078-10.asp?cat=laboratory>

Anaeróbne materiály je potrebné kultivovať v anaeróbnom prostredí (ANAEROSTAT). Nádoba obsahuje držiak na skúmavky, chemickú látku na vytvorenie anaeróbnej atmosféry, katalyzátor a indikátor anaeróbného prostredia. Celá nádoba sa vloží do termostatu a kultivuje sa 48 hod. Biologický spôsob odstránenia kyslíka z prostredia sa vykonáva pomocou kmeňa *Serratia marcescens*. Fyzikálny spôsob zabezpečenia anaeróbného prostredia je možné navodiť odsatím vzduchu a jeho nahradením dusíkom, CO₂, alebo ich zmesou, prípadne je možné použiť sviečkový exikátor.



Obr. 71. Anaerostat – chemická metóda anaeróbnej kultivácie.

http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/i_nurse/classes_stud/en/ADN%20Program/Freshmen%20year/Fall%20semester/Microbiology/4_TYPES%20OF%20BACTERIAL%20RESPIRATION.htm

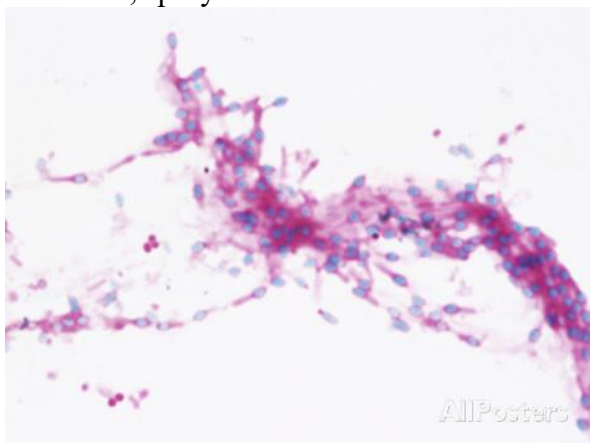
B. Mikroskopia *C. tetani*

Mikroskopujte preparát z čistej kultúry *C. tetani* zafarbený podľa Grama.

C. tetani je grampozitívna sporulujúca palička. Terminálne alebo subterminálne uložené spóry sú v preparátoch farbených podľa Grama viditeľné ako nezafarbené útvary, ktoré deformujú tvar baktériového tela (tenisová raketa, paličky na bubon).

Mikroskopujte preparát z čistej kultúry *C. tetani* zafarbený podľa Wirtz-Conklina.

Na dôkaz spór sa používa farbenie podľa Wirtz-Conklina. Fixovaný preparát sa preleje 5%-ným roztokom malachitovej zelenej, zahrieva sa do výstupu pár (3-krát). Po opláchnutí vodou sa dofarbuje zriedeným karbolfuchsinom (2-3 minúty). Telá baktérií sú ružové, spóry zelené.



Obr. 72. *C. tetani* – farbenie podľa Wirtz –Conklina.

http://www.allposters.co.uk/-sp/Clostridium-Tetani-Bacteria-with-Terminal-Spores-LM-X400-Posters_i9012141_.htm

1.6 Anaeróbne nesporulujúce baktérie

Aneróbne infekcie vyvolané anaeróbnymi nesporulujúcimi baktériami sú podmienené poruchou nešpecifických imunitných mechanizmov, sú oportúnne, obvykle endogénne, polymikrobiálne a často zmiešané (spoluúčasť fakultatívne anaeróbych baktérií). Vyvolávajú rôzne klinické ochorenia: intraabdominálne a pľúcne infekcie, infekcie v panvovej oblasti, zapríčiňujú tvorbu abscesov, sú zodpovedné za infekcie mäkkých tkanív, zubné a ústne infekcie, bakterémiu a endokarditídu.



Obr. 73. Dentálny absces vyvolaný anaeróbnymi baktériami.

<http://anaerobicinfections.blogspot.sk/p/central-nervous-system-eye-and-dental.html>

Na anaeróbnú infekciu je potrebné myslieť pri negatívnej aeróbnej kultivácii pri pretrvávajúcich charakteristických klinických príznakoch (hnisavé abscesy v nekrotických oblastiach s typickou lokalizáciou so zlým krvným zásobením, zapáchajúci sekrét)

Odber a transport materiálu na mikrobiologické vyšetrenie musí byť striktne za anaeróbných podmienok. Sú potrebné vhodné odberové nádoby (nie suchý tampón). Odoberá sa tekutý materiál do injekčnej striekačky zo stredu a z vnútra miesta infekcie (nie z okrajov) alebo excidované tkanivo. Odberovú alebo transportnú nádobu je potrebné hermeticky uzavrieť. Pri endoftalmitíde a keratitíde sa odoberá zoškrab z rohovky alebo tkanivo do fyziologického roztoku.

Liečba: Antibiotiká (penicilín, metronidazol) sú len podporné, potrebná je aj zmena prostredia a navodenie prirodzených ekologických podmienok spolu s oxygénterapiou, instiláciou peroxidu vodíka a pod.

1.6.1 Anaeróbne nesporulujúce grampozitívne paličky

Rod: *Actinomyces*
Mobiluncus
Lactobacillus
Propionibacterium

Anaeróbne nesporulujúce grampozitívne paličky predstavujú širokú skupinu baktérií, ktoré kolonizujú kožu a sliznice. Rody *Actinomyces*, *Mobiluncus*, *Lactobacillus* a *Propionibacterium* sú typické oportúnne patogény, rody *Bifidobacterium* a *Eubacterium* bývajú izolované z klinických materiálov ale infekcie u ľudí vyvolávajú veľmi zriedkavo

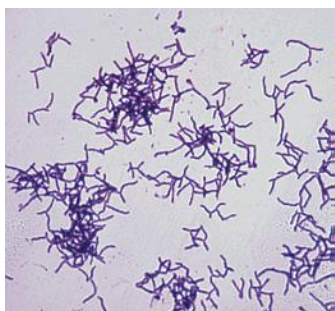
Aktinomycéty

Všeobecná charakteristika

Aktinomycéty sú pomaly rastúce anaeróbne alebo fakultatívne anaeróbne nesporulujúce grampozitívne paličky. Vyvolávajú chronické, pomaly sa rozvíjajúce endogénne infekcie. V klinických vzorkách alebo v kultúrach vytvárajú typické vláknité formy, pripomínajúce hýfy. U ľudí najčastejšie vyvolávajú infekcie *A. israeli*, *A. naeslundii*, *A. radingae* a *A. turicensis*.

Tabuľka 15. Anaeróbne infekcie – prehľad.

Mikroorganizmus	Ochorenie
<i>Actinomyces</i> spp.	- lokalizované ústne infekcie Aktinomykóza: - cervikofaciálna - hrudná - panvová - centrálneho nervového systému
<i>Propionibacterium</i> spp.	- akné - zápal slzných žliaz - oportunistické infekcie
<i>Mobiluncusspp.</i>	- bakteriálna vaginóza - oportunistické infekcie
<i>Lactobacillus</i> spp.	- endokarditída - oportunistické infekcie
<i>Eubacterium</i> spp.	- zriedkavé oportunistické infekcie
<i>Bifidobacterium</i> spp.	- zriedkavé oportunistické infekcie



Obr. 74. Actinomyces israeli.

http://www.textbookofbacteriology.net/normalflora_5.html

Patogénny potenciál a imunita

Aktinomycéty kolonizujú horné dýchacie cesty, tráviaci trakt a sliznicu genitálu u žien. Infekcie vznikajú pri porušení slizničných bariér (poranenie, chirurgický zákrok, infekcia). Aktinomykóza je charakterizovaná tvorbou chronických granulomatóznych lézií, ktoré postupne hnisajú a vytvárajú abscesy navzájom pospájané drénujúcimi sínusmi (**mycetóm**). Mikroorganizmy v postihnutých tkanivách vytvárajú makroskopické, žlté alebo oranžové granuló (pre charakteristické zafarbenie sú označované ako **sírové granuló**).



Obr. 75. Mycetóm.

<http://www.annclinlabsci.org/content/33/3/329/F1.large.jpg>

Ochorenia

Najčastejším typom je **cervikofaciálna** aktinomykóza. Postihnuté sú oblasti tváre a krku. Symptómy **hrudnej** aktinomykózy sú nešpecifické, v skorých štádiách sa môžu vyvíjať pľúcne abscesy. **Abdominálna** aktinomykóza sa môže šíriť z brušnej dutiny a postihnúť aj iné orgány. Infekcia **panvovej** oblasti sa prejavuje deštrukciou tkaniva, tvorbou tuboovariálnych abscesov. Najčastejším prejavom aktinomykózy **CNS** je mozgový absces, môže sa však vyskytnúť aj meningitída, subdurálny empyém alebo epidurálny absces.

Vo vážnych prípadoch aktinomykózy sa môžu baktérie šíriť do okolitých kostí, svalov a kože, cez ktorú potom vyteká veľké množstvo hnisu. Produkovaný hnis obsahuje množstvo charakteristických granúl naplnených baktériami. Tieto granuly sa označujú ako „sírové granuly“, pomenovanie je odvodené od ich vzhľadu (žltá farba), v skutočnosti neobsahujú síru.



Obr. 76. Sírové granulá pri aktinomykóze.

<http://pathmicro.med.sc.edu/mycology/sulphur-granules.gif>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika je pomerne náročná. Mikroskopicky je možné potvrdiť aktinomycéty priamo v sírových granulách, ktoré je pred vyšetrením potrebné rozdrviť medzi dvoma podložnými sklíčkami. Kultivácia sa vykonáva za anaeróbnych podmienok, obvykle je dlhodobá (dva týždne a viac). Jednotlivé druhy aktinomycét je možné odlíšiť pomocou biochemických testov. Liečba spočíva v dréžovaní abscesov, odstránení postihnutých tkanív a dlhodobom podávaní antibiotík. Liekom voľby je penicilín, môžu sa podávať aj karbapenémy alebo makrolidy. Rezistencia aktinomycét na metronidazol je pomerne častá.

Kazuistika

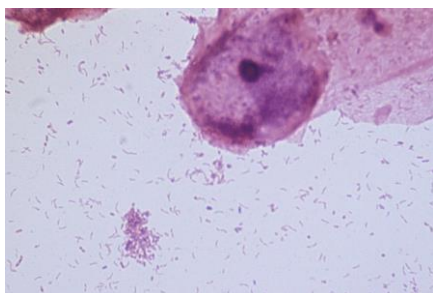
41-ročná žena udáva bolesti brucha a v panvovej oblasti, ktoré trvajú 5 mesiacov. Schudla, pociťuje stálu únavu, má žltý vaginálny výtok. Pred rokom jej bolo odstránené vnútromaternicové teliesko, čoskoro po odstránení začala pociťovať uvedené ťažkosti. Vyšetrenie CT odhalilo prítomnosť masy v panvovej oblasti, ktorá zasahovala až na vajcovody. Boli identifikované početné pečťové abscesy. Zo vzoriek odobratých počas chirurgickej biopsie bola mikrobiologickým testovaním zistená prítomnosť *Actinomyces* spp. Pacientka následne podstúpila chirurgický zákrok na odstránenie postihnutého tkaniva a začala perorálne užívať penicilín. Antibiotická liečba trvala 1 rok, pacientka sa uzdravila.

Kedy mohlo u pacientky dôjsť k infekcii aktinomycétami?
Aká je mikrobiologická diagnostika aktinomykózy?
Aké sú formy aktinomykózy?

Mobiluncus

Všeobecná charakteristika

Baktérie z rodu *Mobiluncus* sú obligátne anaeróbne zahnuté paličky so špicatými koncami, ktoré sa farbia gramnegatívne alebo sú gramvariabilné. Aj napriek ich gramnegatívnejmu zafarbeniu sú klasifikované ako grampozitívne paličky, pretože zloženie ich bunkovej steny je rovnaké ako u grampozitívnych baktérií, neobsahujú endotoxín.



Obr. 77. *Mobiluncus*.

<http://www.gefor.4t.com/concurso/bacteriologia/mobiluncus3.jpg>

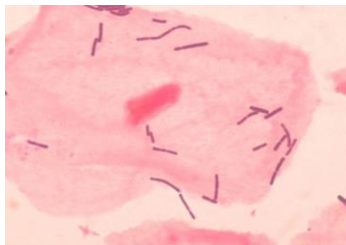
Ochorenia, laboratórna diagnostika a liečba

M. curtisii je často vo veľkých množstvách prítomný vo vagíne žien s bakteriálnou vaginózou, jeho význam v patogenéze infekcie však nie je objasnený. Mikrobiologická diagnostika sa opiera o ich typický vzhľad v mikroskope, kultivačný dôkaz je náročný, pretože baktérie sú citlivé na vonkajšie prostredie a rastú veľmi pomaly na pôdach obohatených o králičie alebo konské sérum. Baktérie z rodu *Mobiluncus* sú citlivé na vankomycín, klindamycín, erytromycín a ampicilín, sú rezistentné na kolistín.

Laktobacily

Všeobecná charakteristika

Laktobacily sú súčasťou normálnej mikroflóry v ústach, v žalúdku a črevách a v urogenitálnom trakte. Príslušníci tohto rodu sú fakultatívne anaeróbne alebo striktné anaeróbne mikroorganizmy.



Obr. 78. *Lactobacillus*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/Lactobacillus_sp_01.png

Ochorenia, laboratórna diagnostika a liečba

Laktobacily zriedkavo spôsobujú infekcie močového traktu, pretože nie sú schopné rásť v moči. Baktérie môžu zriedkavo vstúpiť do krvi a vyvolať tranzitnú bakterémiu po pôrode alebo po chirurgických zákrokoch, ďalej endokarditídu alebo septikémiu u imunokompromitovaných pacientov. Laboratórna diagnostika je mikroskopická s typickým nálezom grampozitívnych paličiek v biologických vzorkách. Liečba je zložitá, pretože laktobacily sú rezistentné na vankomycín, ostatné antibiotiká ich inhibujú, ale nemajú baktericídny účinok. V terapii sa osvedčila kombinácia penicilínu a aminoglykozidov, ktorá má nas laktobacily baktericídny účinok.

Kazuistika

63-ročná žena bola hospitalizovaná pre predsieňovú fibriláciu, v anamnéze udávala príznaky podobné chrípke, ktoré trvali dva týždne. Pacientka pred mesiacom absolvovala stomatologický zákrok bez profylaktického podávania antibiotík. V detskom veku jej bola diagnostikovaná febris reumatica s následným prolapsom mitrálnej chlopne a regurgitáciou. Pri prijatí bola afebrilná, mala tachykardiu a tachypnoe. Vyšetrením srdca sa zistil systolický šelest. Boli odobraté tri vzorky krvi na hemokultivačné vyšetrenie, vo všetkých bol kultivačne dokázaný *Lactobacillus acidophilus*. Pacientka bola následne liečená penicilínom a gentamycínom po dobu 6 týždňov, uzdravila sa a bola prepustená domov.

Čo bolo v danom prípade rizikovým faktorom pre vznik infekcie?
Kde v ľudskom tele sa fyziologicky vyskytujú laktobacily?
Aké ochorenia môžu vyvolať laktobacily?

Propionibaktérie

Všeobecná charakteristika

Sú to malé, grampozitívne paličky usporiadané do retiazok alebo zhlukov. Bežne sú prítomné na koži, v orofaryngu, vonkajšom uchu a v ženskom genitálnom trakte.



Obr. 79. *P. acnes* – farbenie podľa Grama.

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Propionibacterium_acnes.tif

Baktérie sú nepohyblivé, aerotolerantné, produkujú katalázu a sú schopné fermentovať cukry, pričom produkujú kyselinu propiónovú.

Ochorenia, laboratórna diagnostika a liečba

P. acnes vyvoláva acne vulgaris u adolescentov a mladých ľudí, oportunistické infekcie u pacientov s umelými náhradami chlopní a u katetrizovaných pacientov. *P. acnes* stimuluje zápalovú odpoveď, produkcia peptidov s nízkou molekulovou hmotnosťou a ich prítomnosť v mazových folikuloch stimuluje migráciu leukocytov, ktoré fagocytujú baktérie, dochádza k uvoľňovaniu hydrolytických enzýmov (lipázy, proteázy, neuraminidázu a hyaluronidázu), vzniká lokálny zápal.

P. propionicum vyvoláva endodontické abscesy a zápaly slzných kanálikov.

Na laboratórnu diagnostiku sa používa kultivačný dôkaz, propionobaktérie rastú dobre na bežných kultivačných médiách. Problémom je častá kontaminácia vzoriek fyziologickou mikroflórou z kože a slizníc. Pozitívny kultivačný nález musí byť vždy interpretovaný v súlade s aktuálnym klinickým obrazom pacienta (napr. zavedený katéter, ktorý môže byť zdrojom infekcie). Na liečbu akné sa používa benzoyl peroxid a antibiotiká. Účinné sú erytromycín a klindamycín.



Obr. 80. Acne vulgaris.

<http://www.dermnetnz.org/acne/acne-vulgaris.html>

Kazuistika

U 38-ročnej ženy s vrodeným hydrocefalom sa pred týždňom objavili poruchy vedomia, bolesti hlavy a vracanie. Pacientka v minulosti podstúpila niekoľko zákrokov na zavedenie ventrikuloperitonálneho shuntu, posledný bol pred piatimi rokmi. Pri prijatí do nemocnice bola afebrilná, somnolentná, reagovala len na bolestivú stimuláciu. Výsledky vyšetrenia likvoru ukázali zvýšené množstvo leukocytov, vysoké hladiny bielkovín a mierne zníženie hladiny glukózy. Mikroskopicky boli v likvore prítomné pleiomorfné grampozitívne paličky, anaeróbnou kultiváciou bol dokázaný *P. acnes*. Následne bol pacientke podávaný penicilín vo vysokých dávkach, liečba trvala týždeň. Opakované mikrobiologické vyšetrenie likvoru bolo stále pozitívne na prítomnosť *P. acnes*. Pacientke chirurgicky odstránili zavedený shunt, ďalej pokračovala liečba penicilínom nasledujúcich 10 týždňov. Opakované kontrolné vyšetrenie likvoru bolo po tejto liečbe negatívne.

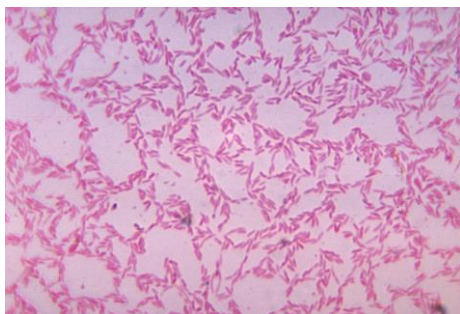
Aká bola pravdepodobná príčina infekcie u tejto pacientky?
Aké infekcie vyvoláva *P. acnes*?

1.6.2 Anaeróbne nesporeujúce gramnegatívne baktérie

Bacteroides fragilis
Fusobacterium nucleatum
Prevotella melaninogenica
Porphyromonas assaccharolytica
Veillonella parvula

Charakteristika

Jednotlivé rody z tejto skupiny sú charakterizované ako gramnegatívne, anaeróbne paličky alebo kokoidné paličky, obvykle opuzdrené. Sú súčasťou fyziologickej flóry predovšetkým v tráviacom trakte. Patria medzi oportúnne patogénne mikroorganizmy, ktoré vyvolávajú tkanivové poškodenie v rôznych lokalitách. Rod *Bacteroides* sú pleiomorfné baktérie, ich rast je stimulovaný žľou. Rod *Porphyromonas* a *Prevotella* sú veľmi malé gramnegatívne paličky. Rod *Fusobacterium* sú predĺžené gramnegatívne paličky.



Obr. 81. *Bacteroides* spp. – farbenie podľa Grama.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Bacteroides_biacutis_01.jpg

Patogénny potenciál a imunita

Najdôležitejším nástrojom virulencie u rodov *Bacteroides* a *Prevotella* je puzdro, ktoré má výrazné antifagocytárne vlastnosti a zabezpečuje adhérenciu baktérií na peritoneum. Niektoré baktérie adherujú na epiteliálne bunky pomocou fimbrií. Intracelulárne zabíjanie fagocytovaných baktérií je inhibované produkciou mastných kyselín v procese anaeróbného metabolizmu baktérií. Endotoxín bunkovej steny *B. fragilis* je biologicky neúčinný, pretože neobsahuje aktívnu časť lipidu A. Najdôležitejšou podmienkou na vyvolanie ochorenia sú individuálne endogénne charakteristiky jedinca (imunosupresia, terapia aminoglykozidmi, poškodenie tkaniva, malignity). *B. fragilis* je schopný dekonjugovať žľožové kyseliny, niektoré druhy sú schopné inaktivovať karcinogénny potenciál chemických látok. *Bacteroides* produkuje viaceré exoenzýmy, ktoré zohrávajú úlohu v patogenéze ochorení pri invázii baktérie a jej šírení v organizme navodením tkanivového poškodenia po traume (kolagenáza, neuraminidáza, DNáza, heparináza, proteázy). Baktérie, ktoré sú schopné vyvolať ochorenia u ľudí môžu tolerovať expozíciu kyslíku, niektoré produkujú peroxidázu alebo superoxid dismutázu, ktoré inaktivujú peroxid vodíka a superoxidové voľné radikály.



Obr. 82. *Fusobacterium nucleatum*

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Fusobacterium_nucleatum

Ochorenia

Anaeróbne mikroorganizmy vyvolávajú infekcie respiračného traktu, približne polovica chronických sinusitíd a otitíd a periodontálnych infekcií je spôsobená baktériami z tejto skupiny. Vznik mozgových abscesov má tiež obvykle polymikrobiálnu etiológiu, ich vznik súvisí najmä s chronickými infekciami paranazálnych dutín a ucha. Intraabdominálne infekcie majú obvykle endogénny pôvod, najčastejšie izolovaným mikroorganizmom je *B. fragilis*. Gynekologické infekcie sa prejavujú zápalovými procesmi v panve, formovaním abscesov alebo endometritídou. Anaeróbne gramnegatívne baktérie nie sú súčasťou fyziologickej mikroflóry na koži, infekcie kože a mäkkých tkanív vznikajú po kontaminácii rán týmito baktériami, alebo po pohryzení. V niektorých prípadoch sa môže vyvinúť až život ohrozujúca infekcia, napríklad myonekróza. Bakteriémiu najčastejšie spôsobuje *B. fragilis*.

Laboratórna diagnostika a liečba

V mikroskopických preparátoch farbených podľa Grama sú viditeľné gramnegatívne paličky alebo kokobacilárne útvary, nespočítateľné. Na dôkaz puzdra je možné použiť Burriho tušovú metódu. Mikroskopické vyšetrenie nie je diagnostické. Kultivácia za anaeróbných podmienok a biochemická identifikácia (ANAEROTESTY) je potrebná pre konečnú diagnostiku. Takmer všetky kmene *B. fragilis* a mnohé iné baktérie z tejto skupiny produkujú β -laktamázy, takže sú rezistentné na penicilíny a niektoré

cefalosporíny. Najlepšia účinnosť sa dosahuje pri podávaní metronidazolu, karbapenémov alebo β -laktámových antibiotík s inhibítormi β -laktamáz.

Kazuistika

65-ročný muž bol prijatý do nemocnice s bolesťami brucha a vysokou horúčkou,. Pri prijatí bolo brucho palpačne citlivé, horúčka 40°C. Pacient bol laparotomicky operovaný pre podozrenie na apendicitídu, peroperačne bola zistená ruptúra apendixu a prítomnosť asi 20 mililitrov zápachajúceho hnisu. Vzorka hnisu bola odoslaná na aeróbne a anaeróbne kultivačné vyšetrenie. Pooperačne bola u pacienta indikovaná antibiotická liečba. Mikroskopia vzorky preukázala prítomnosť viacerých mikroorganizmov, kultivačný nález potvrdil *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* a *Enterococcus faecalis*.

Ktorý z izolovaných mikroorganizmov vyvolal infekciu u pacienta?

Aké antibiotiká je možné použiť na liečbu?

Ktoré anaeróbne gramnegatívne paličky vyvolávajú ochorenia u ľudí?

OTÁZKY

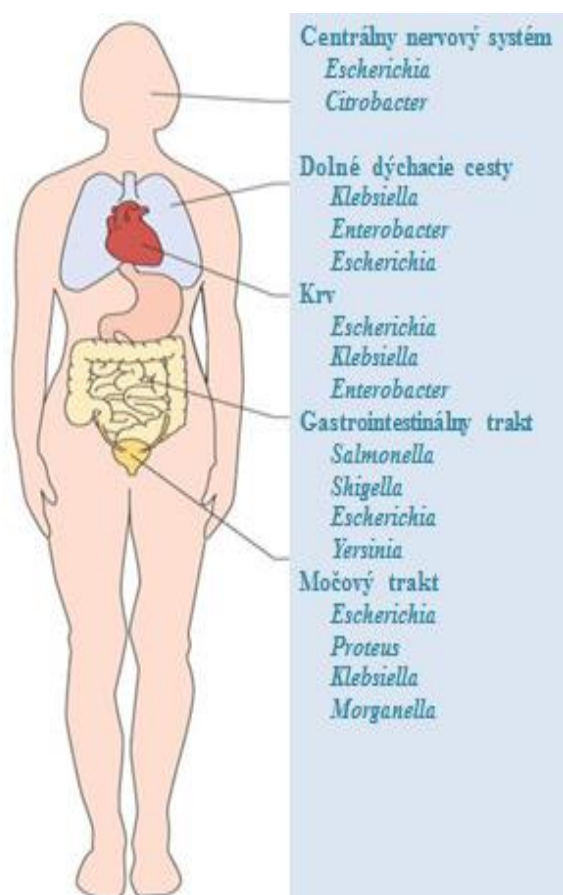
1. Charakterizujte klostrídiá.
2. Opíšte mechanizmu účinku tetanospazmínu.
3. Ako sa prenáša tetanus?
4. Aké sú charakteristické klinické príznaky tetanu?
5. Aké sú princípy diagnostiky tetanu?
6. Aké sú liečebné postupy pri tetane?
7. Opíšte mechanizmu účinku botulotoxínu.
8. Ako sa prenáša botulizmus?
9. Aké sú charakteristické klinické príznaky botulizmu?
10. Aké sú princípy diagnostiky botulizmu?
11. Aké sú liečebné postupy pri botulizme?
12. Aké infekcie vyvoláva *C. perfringens*?
13. Aké infekcie vyvoláva *C. difficile*?
14. Ktoré podmienky napomáhajú vzniku anaeróbných infekcií?
15. Na čo slúži regenerácia kultivačných pôd pre anaeróby?
16. Ako je potrebné odoberať infekčný materiál na dôkaz anaeróbných baktérií?
17. Ktoré pôdy sa používajú na kultiváciu anaeróbných baktérií?
18. Akým spôsobom sa zabezpečuje anaeróbne prostredie na kultiváciu anaeróbov?
19. Akým spôsobom vznikajú infekcie spôsobené aktinomycétami?
20. Charakterizujete baktérie z rodu *Mobiluncus*.
21. Aký je mechanizmus vzniku infekcií vyvolaných *Propionibacterium acnes*?
22. Aké infekcie vyvoláva *B. fragilis*?
23. Aké infekcie vyvolávajú baktérie z rodu *Lactobacillus*?
24. Ktoré antibiotiká sa používajú v liečbe anaeróbných infekcií?

1.7 Gramnegatívne fakultatívne anaeróbne fermentujúce paličky

Enterobacteriaceae

Enterobaktérie tvoria najväčšiu a najheterogénnejšiu skupinu medicínsky významných gramnegatívnych paličiek. Nachádzajú sa vo vode, pôde, rastlinách, sú súčasťou normálnej mikroflóry u väčšiny živočíchov, vrátane človeka. Tieto baktérie vyvolávajú u ľudí rôzne ochorenia, sú zodpovedné napríklad za približne jednu tretinu všetkých bakterémií, za 70% infekcií močového traktu. Vyvolávajú tiež infekcie gastrointestinálneho traktu.

Niektoré enterobaktérie sú primárne patogénne (napr. *Shigella* spp., *Yersinia pestis*), niektoré sú súčasťou fyziologickej mikroflóry a môžu zapríčiniť oportúnne infekcie (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*). Enterobaktérie, ktoré sú súčasťou fyziologickej mikroflóry sa môžu stať patogénnymi, ak získajú gén pre virulenciu z plazmidu alebo prostredníctvom bakteriofága.



Obr. 83. Infekcie vyvolané enterobaktériami.

Charakteristika

Enterobacteriaceae sú gramnegatívne, fakultatívne anaeróbne paličky, pohyblivé (peritrichálne bičíky) alebo nepohyblivé, netvoria spóry, rastú rýchlo na neselektívnych a selektívnych médiách, produkujú katalázu, majú negatívnu oxidázovú reakciu.

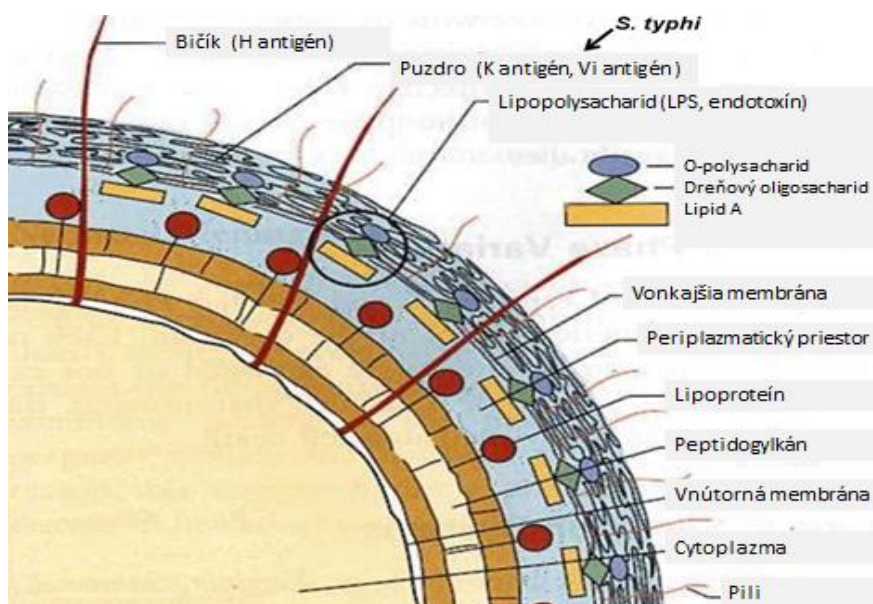
Selektívne médiá sa používajú na vzájomné odlíšenie laktózu kvasiacich (napr. *E. coli*) a lakózu nekvasiacich (napr. *Salmonella sp.*) enterobaktérií.

Epidemiologická (sérologická) klasifikácia enterobaktérií je možná na základe troch hlavných antigénov, ktorými sú:

- somatický (O antigén) – kmeňovo špecifický
- puzdrový (K antigén) - termolabilný
- bičikový (H antigén) - termolabilný proteín (flagelín)

Jednotlivé antigény je možné určiť pomocou aglutinácie so špecifickými protilátkami.

Antigénna štruktúra enterobaktérií je znázornená na obrázku 84.

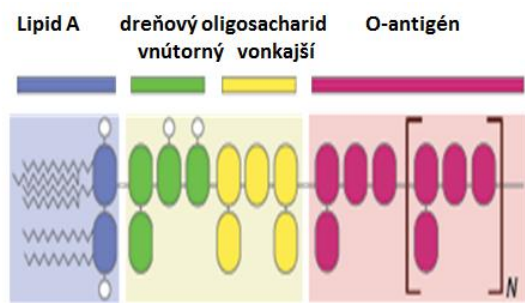


Obr. 84. Antigénna štruktúra enterobaktérií.

Patogénny potenciál a imunita

Najdôležitejším antigénom enterobaktérií je termostabilný **lipopolysacharid (LPS)** bunkovej steny, ktorý tvoria tri komponenty:

- somatický O polysacharid - epidemiologická klasifikácia kmeňov
- dreňový polysacharid - spoločný pre všetky enterobaktérie, označuje sa aj ako spoločný antigén enterobaktérií (angl. enterobacterial common antigen)
- lipid A – nositeľ endotoxínovej aktivity, faktor virulencie



Obr. 85. Štruktúra lipopolysacharidu enterobaktérií.

http://www.uoguelph.ca/~cwhitfie/lps_core.html

Endotoxín vyvoláva aktiváciu komplementovej kaskády, uvoľňovanie cytokínov, leukocytózu, trombocytopéniu, diseminovanú intravaskulárnu koagulopatiu, horúčku, zníženie periférnej cirkulácie, šok a smrť. **Puzdro** zabezpečuje ochranu enterobaktérií pred fagocytózou a pred baktericídnym pôsobením séra. **Antigénne variácie** expresie O, H a K antigénov chránia baktérie pred zničením protilátkami.

Escherichia coli

Charakteristika

E. coli je gramnegatívna, fakultatívne anaeróbna pohyblivá palička, skvasuje laktózu. Je bežne prítomná na sliznici čreva. Môže vyvolávať gastroenteritídy, extraintestinálne infekcie močového traktu, meningitídu a sepsu. Niektoré sérotypy s vyššou virulenciou môžu vyvolávať závažné ochorenia, napríklad *E. coli* O157:H7 spôsobuje hemoragickú kolitídu a hemolyticko-uremický syndróm.

Patogénny potenciál a imunita

E. coli má základnú štruktúru typickú pre enterobaktérie (O, H a K antigény). Lipopolysacharid bunkovej steny má biologické účinky endotoxínu. Podmienečne patogénne *E. coli* sa uplatnia mimo svojej fyziologickej lokalizácie a vyvolávajú zápalovú reakciu (infekcie močových ciest, intraabdominálne infekcie, novorodenecké meningitídy, bakterémiu). Pri porušení eumikróbie v čreve vyvolávajú poruchu vstrebávania vody a elektrolytov.

Opuzdrené kmene sú virulentnejšie a typ puzdra predisponuje k určitým ochoreniam. *E. coli* s puzdrom typu K1 predisponuje ku novorodenckým meningitídám. Možným mechanizmom sú jeho výrazné antifagocytárne vlastnosti. Zaujímavá je skrížená reaktivita puzdrového antigénu K1 s kapsulárnym antigénom *N. meningitidis* skupiny B u kmeňov vyvolávajúcich meningitídu.

Medzi **obránné mechanizmy** nešpecifickej imunity patria acidita žalúdka, eumikróbia fyziologickej flóry čreva, peristaltika a niektoré genetické zložky (prítomnosť špecifických bunkových receptorov pre špecifické antigény fimbrií). Materské mlieko obsahuje neutralizujúce faktory.

Ochorenia

E. coli je súčasťou fyziologickej mikroflóry v gastrointestinálnom trakte. Aj keď väčšina kmeňov je oportúnne patogénnych, niektoré kmene sú primárne patogénne. Je indikátorom fekálneho znečistenia a patrí k najčastejším etiologickým agensom infekcií močového traktu a nozokomiálnych infekcií. Vyvoláva endogénne aj exogénne infekcie.



Obr. 86. *E. coli* – farbenie podľa Grama.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e8/Escherichia_coli_Gram.jpg

Gastroenteritída

E. coli vyvolávajúce gastroenteritídu sú rozdelené do piatich klinicky relevantných skupín:

- **enterotoxigénne *E. coli* (ETEC)** – produkujú termostabilný a termolabilný enterotoxín a pôsobia v tenkom čreve. Spôsobujú tzv. hnačky cestovateľov.
- **enteroinvázne *E. coli* (EIEC)** – vnikajú do epiteliálnych buniek hrubého čreva a spôsobujú ich deštrukciu.
- **enteroagregačné *E. coli* (EAEC)** – produkujú enteroagregačný termostabilný enterotoxín (kódovaný plazmidom).
- **enteropatogénne *E. coli* (EPEC)** - adherujú a deštruujú bunky tenkého čreva – salmonella like. Spôsobujú predovšetkých hnačky detí.
- **enterohemoragické *E. coli* (EHEC, O157:H7)** – účinkuje v hrubom čreve, produkuje niekoľko cytotoxínov (verotoxíny) vyvolávajúcich hemorágie až **hemolyticko-uremický syndróm (HUS)**. Rizikovou skupinou sú predovšetkým deti do 1. roku života pri prechode na zmiešanú stravu, kedy kolonizácia EHEC kmeňom môže viesť k produkcii toxínu a vývinu klinického ochorenia. Klinické ochorenie dospelých je viazané na imunosuprimovaných pacientov, prípadne na konzumáciu mäsových a zeleninových výrobkov s preformovaným toxínom v kontaminovaných a nesprávne spracovaných a skladovaných potravinách.

Extraintestinálne infekcie

Infekcie močových ciest (IMC) vznikajú v dôsledku kontaminácie uretry, postupujú ascendentne až do močového mechúra, obličiek alebo prostaty. *E. coli* produkuje adhezíny, ktoré zabezpečia prichytenie baktérií na sliznice močového traktu.

Novorodenecké meningitídy sú spojené najmä s kmeňmi *E. coli*, ktoré majú K1 kapsulárny antigén. *E. coli* patrí medzi najčastejšie patogény vyvolávajúce meningitídu u detí počas prvých štyroch týždňov života.

Septikémia vzniká často ako dôsledok IMC alebo infekcií tráviaceho traktu, najmä u pacientov s oslabenou imunitou.

Laboratórna diagnostika a liečba

Laboratórne potvrdenie *E. coli* pri infekciách tráviaceho traktu sa uskutočňuje z výteru z rekta (tampón stolice) izoláciou na selektívnych pôdach (Endova pôda, McConckey agar) a diagnostických pôdach (DC agar) pôdach. Bližšia identifikácia sa robí na základe biochemických vlastností, fermentáciou cukrov (Hajnova pôda, enterotesty), a ďalej podľa potreby sérotypizáciou a dôkazom toxigénnych kmeňov. Pri extraintestinálnych infekciách je identifikácia a odlíšenie od iných enterobaktérií založená na biochemických vlastnostiach *E. coli* (skvasovanie laktózy, pohyblivosť, na Hajnova pôda, enterotesty). Dôkaz enterohemoragických *E. coli*, predovšetkým O157:H7 sa uskutočňuje latexovou aglutináciou, prípadne imunologickými testami pri závažných klinických diagnózach a u detí do druhého roku života. Kultivačné metódy a princípy stanovenia biochemických vlastností sú podrobnejšie opísané v časti „Úlohy na praktické cvičenia“.

Liečba infekcií je symptomatická, pri diseminovaných a extraintestinálnych infekciách sa podávajú antibiotiká podľa výsledkov testov na stanovenie citlivosti na antibiotiká. Dobrú účinnosť majú kotrimoxazol, kolistín, kanamycín a gentamycín.

Kazuistika

V roku 2006 bol v USA zaznamenaný výskyt gastroenteritídy vyvolanej kmeňom *E. coli* O 157:H7 v 25 rôznych štátoch. Celkovo bolo postihnutých 173 osôb, z toho viac ako polovica bolo prijatých do nemocnice. U 16% z hospitalizovaných pacientov bol diagnostikovaný hemolyticko-uremický syndróm, jeden pacient zomrel. Vyšetrovaním sa zistilo, že zdrojom infekcie bol kontaminovaný špenát. Na základe medializácie výskytu ochorenia a rýchleho určenia zdroja infekcie bol kontaminovaný špenát stiahnutý z predaja v celej krajine.

Kde sa enterobaktérie bežne vyskytujú?
Akým spôsobom mohlo dôjsť ku kontaminácii potravy?
Aké antibiotiká sú účinné proti enterobaktériám?

Salmonely

Rod: *Salmonella*

druh: *typhi*
paratyphi
enteritidis

Charakteristika

Salmonely tvoria rozsiahlu skupinu obligátne patogénnych gramnegatívnych paličiek z radu *Enterobacteriaceae*, ktoré sú charakterizované neschopnosťou skvasovať laktózu, produkciou sírovodíka, pohyblivosťou a schopnosťou produkovať toxín. Antigénnu štruktúru tvoria tri základné antigény H-antigén – bičíkový prítomný v 2 fázach, O-antigén (somatický) predstavujúci časť lipopolysacharidu bunkovej steny a puzdrový K-antigén (u *Salmonella typhi* označovaný ako Vi-antigén).

Antigénna štruktúra salmonel je komplikovaná, na základe DNA analýzy sa zistilo, že väčšina klinicky významných izolátov patrí do rodu *Salmonella enterica* a do tohto rodu patrí viac ako 2500 rôznych sérotypov. Ako samostatné rody sú uvádzané sérotypy *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*. V praxi sa používa binominálna terminológia a klasifikácia salmonel podľa antigénnej štruktúry založená na sérotypizácii (Kauffmann-Whiteova schéma).

KAUFFMAN – WHITEOVA SCHÉMA			
SÉROTYP SALMONELLA	O-ANTIGÉNY	H – ANTIGÉNY	
		fáza 1	fáza 2
1.Typhi	9,12,(Vi)	d	1,2
2 Paratyphi A	1,2.12	a	-
3 Paratyphi B	1,4,5,12	b	1,2
4 Typhimurum	1,4,5,12	l	1,7
5 Enteritidis	1,9,12	g m	1,2

Obr. 87. Kauffman –Whiteova schéma

<http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/Salmonella.html>

Patogénny potenciál a imunita

Salmonella typhi – patogenita závisí na invazivite baktérie do submukózy, prechod do retikuloendotelového systému, krvi a opäť do čreva, schopnosti rozmnožovať sa a produkovať toxín. Vyvoláva celkové ochorenie – brušný týfus. U ostatných salmonel vyvolávajúce ochorenie gastrointestinálneho traktu (salmonelózu) sa pri vzniku infekcie uplatňuje endotoxín, ktorý vyvoláva celkovú reakciu (vysokú teplotu, leukocytózu, zápalovú reakciu). Na vyvolanie ochorenia a gastroenteritídy musí baktéria prekonať faktory nešpecifickej imunity (acidita žalúdka, motilita čreva, prítomnosť molekúl viažúcich Fc fragmenty, výskyt fyziologickej flóry, hlienu) a špecifické sekrečné protilátky triedy IgA. Inváziou podmienené poškodenie enterocytov a následný zápal s aktiváciou adenylcyklázy vyvoláva zmenu vodného hospodárstva a klinické príznaky akútnej gastroenteritídy. Zdrojom infekcie je chorý človek alebo bacilonosič. Prenos sa uskutočňuje nepriamo, vodou kontaminovanou fekáliami, mliekom alebo potravinami. Salmonelly sú pomerne odolné voči vyschnutiu, znášajú teploty pod bodom mrazu a prežívajú v pitnej vode a v mlieku. Na ich likvidáciu postačia bežné dezinfekčné prostriedky a teplota nad 60 °C.

Tabuľka 16. Ochorenia vyvolané salmonelami.

Mikroorganizmus	Ochorenie
<i>Salmonella enteritidis</i>	Salmonelóza (enteritída): - horúčka - vracanie - hnačka (obvykle bez prímеси krvi) - kŕče v bruchu
<i>Salmonella typhi</i>	Brušný týfus : - bolesť hlavy, kašeľ, horúčka, vracanie - bakterémia, kolonizácia žľaz, hyperpyrexia, kožné vyrážky, alterácia vedomia, úbytok hmotnosti, dehydratácia - kožné vyrážky, olupovanie kože, hnačka

Ochorenia

Brušný týfus je závažné infekčné ochorenie **postihujúce iba človeka**. Pôvodcom je *Salmonella enterica* sérovar *Typhi*. Ochorenie je charakterizované **celkovými toxickými príznakmi** a príznakmi z **postihnutia tenkého čreva**. Riziko infekcie je najvyššie u **cestovateľov**, ktorí navštívia oblasti s nízkym hygienickým štandardom. Ochorenie patrí k chorobám **špinavých rúk**. **Neliečený týfus** trvá priemerne štyri týždne.

1. týždeň: pozvoľný, nenápadný začiatok (na ochorenie sa nemyslí), príznaky podobné chrípke, s výraznou bolesťou hlavy (starší názov ochorenia - hlavnička), s neproduktívnym kašľom, horúčka, ktorá schodovito stúpa (*stadium incrementi*), nechutenstvo až nauzea, zvracanie, bolesti na pravej strane brucha, bolesti svalov, hnačka nie je vždy prítomná

2. týždeň : pretrvávajúca hyperpyrexia 40°C, s kolísaním do 1°C (*febris continua*), apatia a strata záujmu o okolie, neuropsychické prejavy, progreduje alterácia vedomia, blúznenie, niekedy až delírium, výrazný úbytok hmotnosti, dehydratácia.

3. týždeň: pretrvávajúce ťažkého celkového stavu, trofické poruchy, olupovanie kože, vypadávanie vlasov, hnačka žltozelenej farby (hrachovej kaše), riziko pridružených črevných, obehových a dýchacích komplikácií, ku koncu týždňa dochádza k pozitívnemu zvratu.

4. týždeň: schodovitý pokles teploty (*stadium decrementi*) a ústup príznakov, vyjasňovanie vedomia, záujem o okolie, psychická labilita, objavuje sa chuť do jedla, niekedy až vlčí hlad, pribúdanie hmotnosti a svalovej sily.



Obr. 88. Brušný týfus – vyrážky na koži.

<https://10faq.com/health/typhoid-fever-symptoms/8/>

Salmonelózy sú infekčné ochorenia, ktoré sa prenášajú sekundárne na človeka z chorých zvierat alebo ich produktov. Salmonely sa primárne vyskytujú v rôznych druhoch živočíchov - cicavcov, vtákov, ale aj studenokrvných živočíchov. K infekcii dochádza po požití potravín, v ktorých sa salmonely namnožili do veľkého množstva - **viac ako 10^6 - 10^9 baktérií** v 1 grame potraviny. Menšie množstvo salmonel sa nemusí prejavíť ochorením, salmonely sa len vylučované stolicou. U rizikových skupín ako sú novorodenci, dojčatá, starí ľudia alebo ľudia s iným základným ochorením môže ochorenie vyvolať aj nižší počet salmonel v potravinách.



Obr. 89. Salmonelóza – rizikové faktory vzniku ochorenia.

<https://www.verywellhealth.com/salmonella-causes-risk-factors-2633811>

Laboratórna diagnostika a liečba

Odobratý materiál (výter z rekta, tampón stolice), je kultivovaný na krvnom agare a selektívnych a diagnostických pôdach (McConckey agar, Endova pôda, Deoxycholát citrátový agar). Salmonely nefermentujú laktózu a majú schopnosť produkovať sírovodík (u *S. typhi* tenký prstenec) a malé množstvo plynu. Na základe ďalšej biochemickej identifikácie sa potvrdí prítomnosť salmonel. Konečná sérotypizácia sa robí špecifickými polyvalentnými a monovalentnými antisérmi aglutináciou na sklíčku na základe Kauffman-Whitovej schémy. Metódy diagnostiky sú podrobnejšie opísané v časti „Úlohy na praktické cvičenia“.

Salmonely sú dobre citlivé na trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilín, chloramfenikol, cefalosporíny, chinolóny. Antibiotická liečba je indikovaná pri systémových a extraintestinálnych ochoreniach, výber vhodných antibiotík sa riadi výsledkami testov na stanovenie citlivosti. Infekcie gastrontestinálneho traktu sa obvykle neliečia antibiotikami.

Kazuistika

25-ročná žena bola hospitalizovaná pre pretrvávajúcu horúčku, ktorá neklesala ani po liečbe ampicilínom, ani po podaní ibuprofénu. Pacientka sa pred 11 dňami vrátila zo zahraničného pobytu na Filipínach. Pri prijatí do nemocnice mala horúčku, zväčšenú pečeň, bolesti brucha. Hemokultivačné vyšetrenie krvi bolo pozitívne na *Salmonella typhi*. Pacientke bola podľa výsledkov testov na stanovenie citlivosti na antibiotiká indikovaná liečba fluorochinolónmi. Po týždni došlo k úprave jej zdravotného stavu, bola prepustená domov.

Ako sa pacientka mohla nakaziť?

Aká je patogenéza týfusu?

Ako sa prejavuje brušný týfus?

Šigely

Rod: *Shigella*
druh: *dysenteriae*
flexneri
sonnei
boydii

Charakteristika

Šigely sú gramnegatívne paličky, fakultatívne anaeróbne, nepohyblivé, málo metabolicky aktívne, bez schopnosti produkovať plyn a skvasovať laktózu. Rozlišujeme štyri skupiny:

podskupina A – nefermentuje manitol, tvorí ju *Shigella dysenteriae* a jej sérotypy

podskupina B – fermentuje manitol, tvorí ju *Shigella flexneri* a jej sérotypy

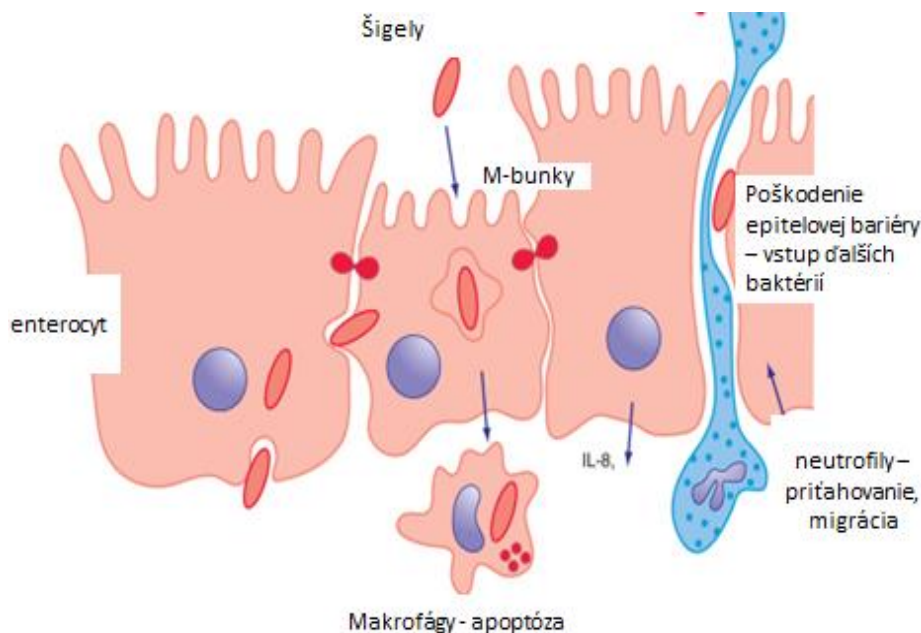
podskupina C – fermentuje manitol, iné antigény ako B, *Shigella boydii*

podskupina D – oneskorene fermentuje laktózu, *Shigella sonnei*

Patogénny potenciál a imunita

Shigelly obsahujú termostabilný lipopolysacharid, sú schopné invázie (penetrácie) do črevných epiteliálnych buniek, produkujú termolabilný exotoxín a vyvolávajú tvorbu ulcerácií v sliznici čreva. Sú acidotolerantné, infekčná dávka je relatívne malá v porovnaní s inými enterobaktériami (10-20 baktériových buniek vyvolá ochorenie). Sekrečné IgA, normálna flóra a fagocytóza môžu poskytnúť nešpecifickú ochranu. Šigely sa vyznačujú schopnosťou adherencie, invazivity, intracelulárneho rozmnožovania a šírenia sa z bunky do bunky. Po kolonizácii hrubého čreva prenikajú

do buniek sliznicového epitelu, v ktorých sa množia a spôsobujú ich nekrózu, pričom vznikajú malé sliznicové ulcerácie, čo sa klinicky prejaví hlienom a pri erózii krvných kapilár aj výskytom krvi v stolici.



Obr. 90. Patogenéza hnačky vyvolanej šigelami.

http://www.uptomed.ir/Digimed.ir/nelson-textbook-of-pediatrics-18th-edition/Nelson_Textbook_of_Pediatrics__18th_Edition/HTML/818.htm

Patologické zmeny postihujú prakticky len hrubé črevo, a to hlavne v jeho distálnej časti. Hlbší prienik do tkanív je vzácny, bakteriémie ani systémové ochorenie pri bežných kmeňoch väčšinou nevzniká. Významným faktorom virulencie *Shigella dysenteriae* je produkcia **shiga-toxínu**, ktorý má **enterotoxické, neurotoxické a cytotoxické účinky**. Poškodzuje črevný epitel, no u malej časti pacientov môže vyvolať poškodenie endotelových buniek, ktoré môže vyústiť do zlyhania obličiek (hemolyticko – uremický syndróm).

Zdrojom infekcie je výhradne človek. Šigelóza je typická „choroba špinavých rúk“, ktorá sa vyskytuje v miestach, kde na malej ploche žije pri nízkej hygiene väčší počet ľudí (kasárne, robotnícke ubytovne, azylové tábory, slumy a podobne).

Ochorenia

Šigelóza (dysentéria, bacilárna úplavica) je vysoko nákazlivé črevné ochorenie. Ochorenie postihuje iba ľudí a klinicky sa manifestuje hnačkou, často s prímiesou hlienu, prípadne krvi. Môže byť sprevádzané bolesťami brucha, zvracaním, horúčkou a v typických prípadoch aj bolestivým nutkaním na stolicu (tenezmy).

Laboratórna diagnostika a liečba

Biologický materiál (výter z rekta, tampón stolice) sa kultivuje na diagnostických a selektívnych pôdach (McConckey agar a DC agar), suspektné laktózu nesekvasujúce kolónie sa identifikujú na základe biochemických vlastností (shigely neprodukujú sírovodík, nie sú pohyblivé). Aglutinácia na sklíčku so špecifickými antiserami umožňuje identifikovať antigénnu štruktúru a sérotyp. Na dôkaz antigénu sa odoberá

stolica, dôkaz je vhodný pri podozrení na epidemický výskyt ochorenia. Shigely sú dobre citlivé na ampicilín a trimetoprim-cotrimoxazol.

Kazuistika

V piatich materských školách v dvoch okresoch bol u 63 detí zaznamenaný výskyt ochorenia, ktoré bolo diagnostikované ako šigelóza. Laboratórnymi vyšetreniami sa zistilo, že pôvodcom ochorenia bol multirezistentný kmeň *Shigella sonnei*. Z izolovaných kmeňov bolo 89% rezistentných na ampicilín a trimetoprim- sulfametoxazol.

Aká je patogenéza tohto ochorenia?

Aké sú typické klinické prejavy šigelovej dyzentérie?

Aké mikrobiologické testy sa používajú na identifikáciu šigel?

Yersínie

Rod: *Yersinia*

druh: *enterocolitica*
pestis

Charakteristika

Yersínie sú gramnegatívne kokovité paličky, bipolárne sa farbiace, v mikroskopických preparátoch vytvárajú typický obraz zatváracieho špendlíka. Primárne patogénne pre človeka sú *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis*, ostatné sú podmiennečne patogénne.

Patogénny potenciál a imunita

Yersínie majú somatický O-antigén a lipid A s endotoxínovou aktivitou. Sú schopné adherencie na cieľové štruktúry, majú cytotoxickú aktivitu, inhibujú migráciu fagocytov a agregáciu krvných doštičiek.

Yersinia pestis je adaptovaná na intracelulárny parazitizmus. Nástrojmi patogenity a virulencie sú puzdro, endotoxín, koaguláza a fibrinolýzín. Vytvára hrubú, antifagocytárne pôsobiacu povrchovú hlienovú vrstvu. Vytvára dve antigénne a antifagocytárne pôsobiace štruktúry F1 a VW (produkované len pri teplote 37°C). Kmene prítomné v hmyzom tieto štruktúry nemajú, čo možno vysvetľuje nepatogénne

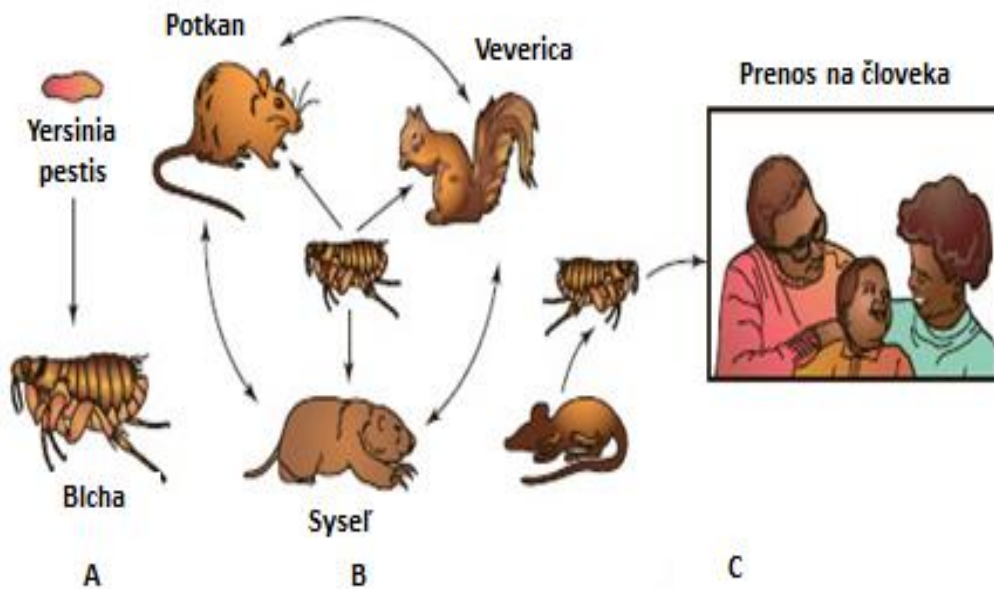
pôsobenie baktérií v tele hmyzu. *Y. pestis* prežíva v monocytoch a po ich opustení obsahuje obidva antigény.



Obr. 91. *Y. pestis* – farbenie podľa Grama.

<http://doh.sd.gov/lab/resources/bt/yersinia/gram.aspx>

Mor, ktorého pôvodcom je *Yersinia pestis*, je dnes endemickou infekčnou chorobou, vyskytujúcou sa najmä v oblastiach centrálnej Ázie, kde žije veľké množstvo menších hlodavcov. Ochorenie patrí medzi zoonózy. Mor sa prenáša rôznymi ektoparazitmi. Potkanie blchy sa infikujú na chorých potkanoch, človek je infikovaný pri poštipaní. Ľudskými blchami sa ochorenie potom ďalej prenáša z človeka na človeka.



Obr. 92. Mor – prenos infekcie.

<https://reference.jrank.org/diseases/Plague.html>

Nákaza je možná aj infikovanými predmetmi a ako kvapôčková infekcia dýchacími cestami. *Yersinia pestis* je veľmi infekčná, na vyvolanie infekcie stačí vdýchnutie 100 až 500 baktérií.

Ochorenia

Infekcie vyvolané yersíniami sú zoonózy, človek sa obvykle nakazí ako náhodný hostiteľ.

Y. pestis vyvoláva u zvierat dva typy ochorenia (mor lesný a mestský). U ľudí sa mor prejavuje v dvoch formách:

1. Bubonický mor (žľazový mor) je antropozoonóza prenesená z hlodavcov infikovaným hmyzom (potkanie blchy), ochorenie začína horúčkou, bolesťami hlavy a končatín, omámenosťou a ťažkým chorobným pocitom po inkubačnej dobe 2-6 dní. V lymfatickej odtokovej oblasti hmyzieho pohryznutia dochádza k bolestivému zápalu lymfatických ciev a lymfatických uzlín, ktorý môže opuchnúť na útvary veľké až 10 cm (vznikajú veľké pakety uzlín – tzv.bubo).



Obr. 93. Bubonický mor.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2f/Plague_-buboes.jpg

2. Pľúcny mor sa môže vyvinúť v priebehu žľazového moru (sekundárny pľúcny mor), môže byť však vyvolaný aj priamo kvapôčkovou infekciou (interhumánny prenos, primárny pľúcny mor). V tomto prípade je inkubačná doba veľmi krátka (1-2 dni). Choroba väčšinou začína prudko – dýchavičnosťou, kašľom, modrým sfarbením pier a čierno-krvavým hlienom. Vykašliavanie vysoko infekčného hlienu je veľmi bolestivé. Neskôr sa vyvíja pľúcny edém a nastáva zlyhanie krvného obehu. Neliečený pľúcny mor prebieha vždy smrteľne, väčšinou medzi 2. a 5. dňom ochorenia.

Y. enterocolitica, *Y. pseudotuberculosis* vyvolávajú samolimitujúcu gastroenteritídu. Subakútne alebo chronicky prebiehajúca infekcia môže imitovať apendicitídu, prípadne vyvolať reaktívnu parainfekčnú artritídu, hepatitídu či osteomyelitídu. Baktéria má najväčšiu metabolickú aktivitu pri 22°C. Boli popísané krvou prenosné posttransfúzne bakterémie a endotoxínový šok (prenos krvnými konzervami).

Laboratórna diagnostika a liečba

Pri podozrení na bubonický mor sa odoberá na kultiváciu uzlina prípadne krv na hemokultiváciu, pri pľúcnej forme sputum. Pre laboratórium platí 3. ochranný stupeň pre nebezpečné infekcie. Pri yersíniovej gastroenteritíde sa kultivuje výter stolice na bežných kultivačných médiách. Na diagnostických pôdach *Y. enterocolitica* neskvasuje laktózu. Dôkaz špecifických protilátok je možný aglutináciou zo séra. Signifikantné sú titre nad 160.

Y. pestis je dobre citlivá na antibiotiká, na liečbu sa používa chloramfenikol a streptomycín. *Y. enterocolitica* je citlivá na ampicilín a tetracyklín.

Tabuľka 17. Šigely a yersínie – charakteristika.

	<i>Shigella</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - gramnegatívna palička - fakultatívne anaeróbna - oxidáza negatívna 	<ul style="list-style-type: none"> - gramnegatívna palička - fakultatívne anaeróbna - oxidáza negatívna - proteínové púzdro (<i>Y. pestis</i>)
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - gastroenteritída - bacilárna dyzentéria - zdrojom nákazy je človek 	<p><i>Y. pestis</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - bubonický mor - pľúcny mor - vysoká mortalita <p><i>Y. enterocolitica</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - gastroenteritída s akútnou alebo chronickou hnačkou - posttransfúzna bakterémia - pseudoappendicitída
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - tampón stolice - kultivačný dôkaz na selektívnych médiách - biochemická identifikácia - serotypizácia 	<ul style="list-style-type: none"> - tampón stolice - kultivačný dôkaz na selektívnych médiách - biochemická identifikácia
Prevencia	<ul style="list-style-type: none"> - dostatočná hygiena - zabrániť ďalšiemu šíreniu mikroorganizmov 	<p>Mor:</p> <ul style="list-style-type: none"> - deratizácia, dezinfekcia <p>Gastroenteritída:</p> <ul style="list-style-type: none"> - dostatočná tepelná úprava jedla
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - podľa výsledkov testov na citlivosť - fluorochinolóny, - trimetoprim-sulfametoxazol 	<p><i>Y. pestis</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - streptomycín, tetracyklín, chloramfenikol <p><i>Y. enterocolitica</i></p> <p><i>Y. pseudotuberculosis</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - cefalosporíny, - aminoglykozidy - chloramfenikol - tetracyklín

Kazuistika

30-ročný muž mal tri dni trvajúcu horúčku, pociťoval nevoľnosť, vracal. V pravej inguinálnej oblasti boli zväčšené lymfatické uzliny. Po návšteve lekára bol odoslaný do domáceho ošetrovania, bez liečby. O ďalšie tri dni neskôr bol prijatý do nemocnice, bol v septickom stave, mal infiltráty v pľúcach obojstranne. Pacient bol izolovaný, liečený gentamicínom. Kultivačné vyšetrenie krvi a lymfatických uzlín bolo pozitívne na *Y. pestis*. Ďalším vyšetrovaním sa zistila prítomnosť *Y. pestis* aj v blchách nájdených v okolí pacientovho domova.

Aká je patogenéza moru?

Aké formy moru poznáte?

Aké mikrobiologické testy sa používajú na diagnostiku yersínií?

Ostatné Enterobacteriaceae

Enterobacter aerogenes

Klebsiella pneumoniae, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella rhinoscleromatis*

Citrobacter freundii

Proteus mirabilis, *Proteus vulgaris*

Providencia rettgeri

Morganella morganii

Serratia marcescens, *Serratia odorifera*

Charakteristika

Ostatné enterobaktérie sú gramnegatívne paličky, obvykle pohyblivé, nesporujúce, fakultatívne anaeróbne, nutrične nenáročné, biochemická aktivita sa využíva na rodovú a druhovú identifikáciu. Majú pozitívnu katalázovú reakciu a negatívnu oxidázovú reakciu (tieto testy sa používajú na odlíšenie enterobaktérií od vibrií a od pseudomonád). S výnimkou rodu *Proteus*, *Morganella* a *Providencia* skvasujú laktózu, čo je významný diagnostický znak používaný na ich odlíšenie od primárne patogénnych salmonel a šigel.

Patogénny potenciál a imunita

Majú typickú stavbu gramnegatívnych baktérií so zodpovedajúcou antigénnou štruktúrou. Somatický O-antigén je termolabilný antigén bunkovej steny je nositeľom biologických účinkov endotoxínu. Puzdrový K-antigén je termolabilný, H-antigén je termolabilný a podlieha antigénnym zmenám. Tieto baktérie sú súčasťou fyziologickej flóry, môžu sa uplatniť ako podmienene patogénne (pri premnožení alebo premiestnení do nefyziologickej lokalizácie), prípadne u imunokompromitovaných pacientov (nemocničné infekcie, neonatálne meningitídy, ambulantné infekcie močových ciest).

Patogenita kmeňov je podmienená prítomnosťou fimbrií a schopnosťou adherovať na špecifické receptory.

Klebsiella

Klebsiely vytvárajú puzdro, čím sa zvyšuje ich virulencia a antifagocytárne vlastnosti. Opuzdrené klebsiely rastú na kultivačných pôdach v charakteristických mukózných kolóniách. Typ puzdra predisponuje k lokalizácii infekcie. Typ 1 a 2 prevláda u pneumónií, typy 8, 9, 10 a 24 vyvolávajú najčastejšie močové infekcie. Pravdepodobne je to spôsobené špecifickou interakciou antigénov puzdra a receptorov cieľových buniek. Z klinických materiálov sú najčastejšie izolované:

K. pneumoniae, *K. oxytoca* – vyvolávajú primárne lobárne pneumónie

K. granulomatis – vyvoláva inguinálny granulóm

K. rhinoscleromatis – vyvoláva granulomatózne ochorenia nosa (rinoskleróm)

K. ozaenae – vyvoláva chronickú atrofickú rinitídu

Proteus mirabilis

Produkuje enzým ureázu (diagnostický znak), ktorý rozkladá ureu, čím spôsobuje alkalizáciu moču (toxická pre epitel) a podporuje tvorbu močových kamienkov.

Enterobacter, Citrobacter, Morganella, Serratia

Tieto enterobaktérie vyvolávajú najčastejšie nozokomiálne infekcie u novorodencov a u jedincov so zníženou obranyschopnosťou. Liečba infekcií je obvykle problematická, pretože mnohé kmene sú rezistentné na antibiotiká.

Laboratórna diagnostika

Enterobaktérie dobre rastú na neselektívnych pôdach. Selektívne a diagnostické médiá sa používajú na diferenciálnu diagnostiku v rámci druhu aj rodu (Hajnova pôda, enterotesty – súbor biochemických testov). Jednotlivé postupy sú opísané v časti Úlohy na praktické cvičenia.

Kazuistika

25-ročná žena prišla na pohotovostnú ambulanciu pre 24 hodín trvajúcu krvavú hnačku a difúznú bolesť brucha. Mala nevoľnosť, dvakrát vracala. Pacientka neudávala žiadne zápalové ochorenia žlčníka, hnačky, žiadne osoby, s ktorými bola v kontakte, nemali hnačku. Jej symptómy sa objavili po 24 hodinách po konzumácii hamburgeru z bufetu rýchleho občerstvenia. Vyšetrením per rectum sa potvrdila hnačka s viditeľnou prímесou krvi, sigmoidoskopia odhalila difúzny erytém sliznice a petéchie. Vredy a pseudomembrány neboli prítomné.

Ktoré enterobaktérie môžu vyvolať gastrintestinálne ochorenia?
Ktoré enterobaktérie môžu vyvolať hemoragickú kolitídu?
Aké sú charakteristiky jednotlivých skupín *E. coli*, ktoré vyvolávajú gastroenteritídy?

A. Selektívne a diagnostické pôdy používané na kultiváciu enterobaktérií.

Pri podozrení na ochorenia vyvolané enterobaktériami vyšetrujeme stolicu, moč, krv na hemokultiváciu, telesné tekutiny, hnis a iný materiál. Vzorky sa očkujú na vhodné tekuté a tuhé kultivačné pôdy. Ako selektívna rozmnožovacia pôda sa používa tekutá pôda so seleničitanom sodným alebo tetracionátová pôda, ktorá poskytuje selektívnu rastovú výhodu najmä pre salmonely. Z tuhých pôd sa používajú selektívne diagnostické pôdy:

Endova pôda je selektívna pôda pre enterobaktérie. Selektivita agaru je vytvorená kombináciou siričitanu a bázického fuchsínu, ktoré potláčajú rast grampozitívnych mikroorganizmov.



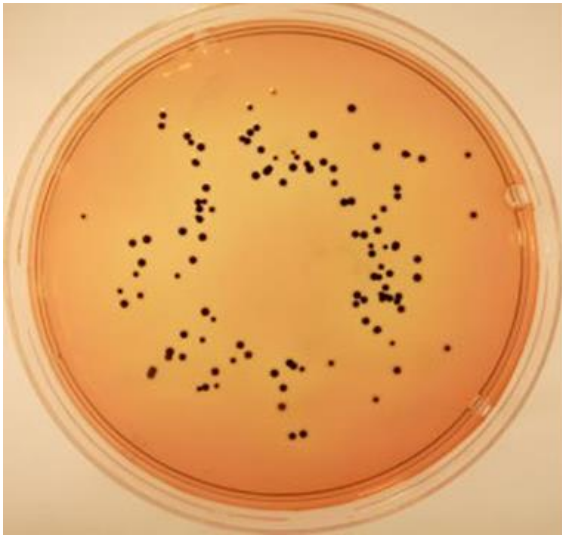
Obr. 94. Endova pôda.

https://sk.wikipedia.org/wiki/S%C3%BABor:Escherichia_coli,_Endo_agar.png

Koliformné baktérie skvasujúce laktózu tvoria na Endovej pôde ružovo-červené až silno červené vypuklé kolónie, v niektorých prípadoch s kovovým leskom (*E. coli*). Rovnako sa sfarbuje médium okolo kolónií. Mikroorganizmy, ktoré laktózu nefermentujú sú bezfarebné, dobre pozorovateľné oproti ružovému pozadiu pôdy.

Dezoxycholát-citrátový agar (DCA) slúži na izoláciu patogénnych črevných enterobaktérií a vzájomné rozlišovanie salmonel a šigel. Selektivita je dosiahnutá pridaním dezoxycholanu sodného a citrananov, ktoré inhibujú rast grampozitívnych baktérií. Enterobaktérie sú diferencované na základe skvasovania laktózy v pôde. Tvorba kyseliny je indikovaná neutrálnou červeňou a vznikom červeno sfarbených kolónií. Niektoré kmene salmonel a proteusov (H_2S pozitívne) tvoria na tejto pôde šedé až čierne stredy – pozitívna tvorba sírovodíka. Rast *E. coli* je na tejto pôde čiastočne potlačený, ale niektoré vitálnejšie kmene môžu rásť ako sýtoružové až červené kolónie.

MacConkey agar obsahuje žlčové soli a kryštálovú violet, ktoré inhibujú rast grampozitívnych baktérií. Agar obsahuje aj laktózu a červené farbivo, ktoré rozlíši laktózu skvasujúce (ružové až červené kolónie) od laktózu neskvasujúcich baktérií (bezfarebné, priesvitné kolónie). Na tejto pôde nie je možné rozlíšiť laktózu neskvasujúce baktérie navzájom (*Proteus*, *Salmonella* alebo *Shigella*). Na ich vzájomné odlíšenie sa indikujú ďalšie diagnostické testy.



Obr. 95. *Salmonella* spp. na deoxycholát-citrátovom agare.

<https://microbeonline.com/deoxycholate-citrate-agar-dca-preparation-uses-colony/>

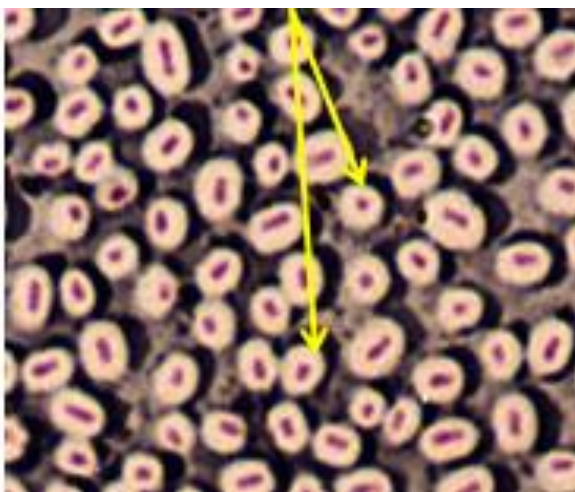
EMB agar je pôda s eozínom a metylénovou modrou, ktorá obsahuje žľčové soli a farbivo inhibujúce rast grampozitívnych baktérií. Rast na EMB agare je vhodný na rozlíšenie laktózu skvasujúcich od laktózu neskvasujúcich baktérií, ktorých kolónie sú bezfarebné. Laktózu skvasujúce patogény (*Salmonella* a *Shigella*) je na tejto pôde možné odlíšiť od bežnej črevnej flóry, ktorá laktózu fermentuje (je teda laktóza-pozitívna).

B. Mikroskopia

Dôkaz puzdra u *Klebsiella pneumoniae*.

Zhotovte fixovaný preparát z kultúry *K. pneumoniae*, zafarbíte Buriho tušovou metódou, mikroskopujte.

Burriho tušová metóda sa používa na negatívne znázornenie baktériových puzdier. Na dofarbenie baktériových tiel vo vnútri puzdra sa používa karbolfuchsin (telá budú ružové) alebo metylénová modrá (telá budú modré). Puzdra sa zviditeľnia na tmavom pozadí ako nezafarbené lemy okolo baktérií.



Obr. 96. Burriho tušová metóda. Bakteriálne púzdra sú nezafarbené.

<https://slideplayer.com/slide/6143488/>

C. Dôkaz pohyblivosti enterobaktérií

Natívny preparát

Zhotovte natívny preparát z kultúry *E. coli*, mikroskopujte.

Natívny preparát slúži na pozorovanie pohyblivosti bakteriálnych buniek. Aktívny pohyb (bičíky) je vo svetelnom mikroskope viditeľný ako chaotické kmitanie mikroorganizmov (rôznymi smermi).

Raussov fenomén

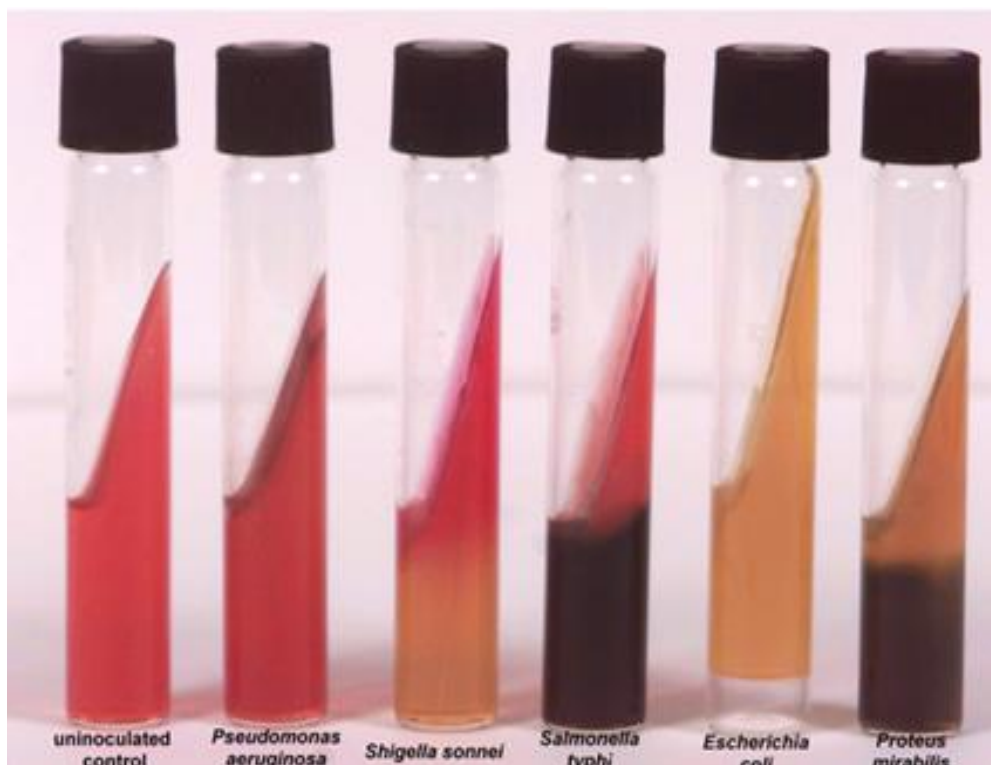
Pohyblivosť *P. mirabilis* je možné identifikovať aj na základe Raussovho fenoménu. Vyšetrovaný kmeň sa naočkuje do stredu platne s kultivačnou pôdou (krvný agar). Počas kultivácie dochádza k postupnému plazivému narastaniu baktériovej populácie od stredu k okraju petriho misky vo forme typických koncentrických kruhov. Tento jav sa označuje ako Raussov fenomén.



Obr. 97. Raussov fenomén.

D. Určovanie biochemických vlastností enterobaktérií (Hajnova pôda, ENTEROTEST)

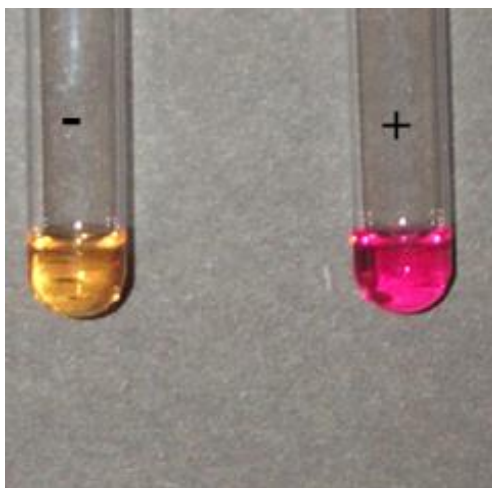
Hajnova pôda je šikmo naliata, tuhá pôda červenej farby, určená na stanovenie niektorých biochemických vlastností enterobaktérií. Pôdu očkujeme kľučkou, naočkujeme vždy iba jednu izolovanú kolóniu. Obsahuje cukry, soli železa a farebný indikátor (fenolová červen). Pri skvasovaní cukrov dôjde k poklesu pH a k zmene farby pôdy z červenej na žltú, baktérie tvoriace sírovodík spôsobia čierne zafarbenie dolnej časti pôdy. Baktérie, ktoré tvoria plyn, spôsobia trhliny v pôde, prípadne dôjde k vytlačeniu celej pôdy nahor.



Obr. 98. Hajnova pôda – dôkaz biochemickej aktivity enterobaktérií.

<https://quizlet.com/336046816/the-triple-sugar-iron-test-tsi-flash-cards/>

Dôkaz produkcie ureázy - do skúmavky s pevnou pôdou s 2% močovinou a s farebným indikátorom (fenolová červeň) vpichom naočkujeme vyšetrovaný kmeň. Pozitívny výsledok (produkcia ureázy) sa prejaví ružovým zafarbením pôdy pôdy.



Obr. 99. Dôkaz produkcie urázy.

<http://lifesci.rutgers.edu/skelly/spring/labnotesweek4.htm>

Tvorba indolu - indol vzniká z tryptofánu, ktorý je súčasťou Hottingerovho bujónu. Vyšetrovaná kultúra sa naočkuje do diagnostickej pôdy, po inkubácii sa pridá Ehrlichovo alebo Kovacsovo činidlo (paradimethylaminobenzaldehyd). Pozitívny výsledok (tvorba indolu) sa prejaví ako červený prstenec na rozhraní tekutín.



Obr. 100. Pozitívna tvorba indolu – ružový prstenec.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/75/Indole_test_positive.jpg

Na dôkaz biochemickej aktivity baktérií sa používajú biochemické identifikačné testy, ktorými zisťujeme prítomnosť produktov alebo metabolitov vznikajúcich využitiem sacharidov, bielkovín alebo iných látok.



Group/Column	Strain Code	Reaction	
		Positive Reaction	Negative Reaction
Table 1 - Row 1			
H	H ₂ S	 	
G	LIT	 	 
F	IND	 	
I	ORN	 	 
D	URE	 	 
C	PHB		
B	ECI	 	 
A	SCI	 	 
Table 2 - Row 2			
H	ML	 	 
G	IND		
F	ABO		
E	CHI		
D	SOC		
C	SOR		
B	TRE		
A	NR		
OHTest	OEI		
OHTest	OHF	 	

MIKRO-LA-TEST®
ENTEROtest 16

Enterobacteriaceae (Genus)
 Species (Genus)

PLIVA - Lachert s.r.o.
 Kralupy, 1
 621 33 Brno
 CZECH REPUBLIC

ENTEROtest 16		ENTEROtest 16																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
Průběh		Průběh																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
Průběh		Průběh																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
Průběh		Průběh																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337

Diagnostika pozitívnej biochemickej reakcie je založená na zmene farby testovacieho média. Sú dostupné štandardné komerčné testy a súbory (ENTEROTEST). Diagnostická súprava ENTEROtest je určená na definitívnu identifikáciu baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* a *Vibrionaceae* do 24 hodín. Súprava obsahuje súbor biochemických testov umiestnených v jamkách delenej mikrotitračnej doštičky. Suspenzia testovaného kmeňa sa pridá do každej jamky, inkubuje sa do druhého dňa. Pozitívne a negatívne reakcie sa odčítavajú na základe farebných zmien v jednotlivých jamkách a zaznamenávajú sa do protokolu. Na základe kombinácie pozitívnych a negatívnych výsledkov biochemických testov sa určí číselná kombinácia, pomocou ktorej identifikujeme testovanú baktériu.

1.8 Vibriá a Aeromonas

Rod: *Vibrio*
druh: *cholerae*
parahaemolyticus
vulnificans
alginolyticus

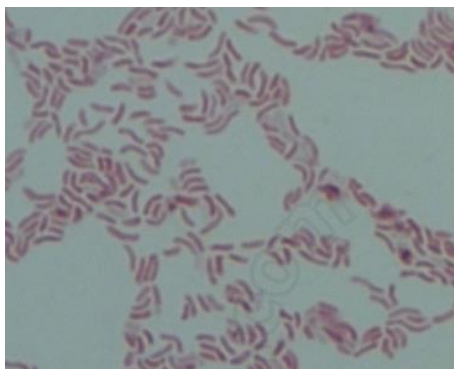
Rod: *Aeromonas*
druh: *hydrophila*
caviae
veronii

Rody *Vibrio* a *Aeromonas* boli v minulosti zaradené do spoločnej čeľade *Vibrionaceae*, v súčasnosti sú na základe molekulárno-biologických odlišností klasifikované ako dve samostatné čeľade *Vibrionaceae* a *Aeromonadaceae*. Sú prítomné vo vode, vyvolávajú gastroenteritídy. Od enterobaktérií sa odlišujú pozitívnou oxidázovou reakciou a prítomnosťou polárne umiestnených bičíkov.

Vibrio

Charakteristika

Pomenovanie týchto gramnegatívnych, fakultatívne anaeróbných fermentujúcich paličiek je odvodené od latinského názvu zahnutej paličky, ktorá obsahuje polárne uložený bičík (pohyb pripomína vibrovanie). Po prvýkrát ju izoloval Robert Koch v roku 1883. V minulosti spôsobila šesť pandémie. Človek je jediný hostiteľ. *V. cholerae* je gramnegatívna, ohnutá, pohyblivá palička, citlivá na kyslé prostredie. Netvorí spóry, je schopná rásť v aeróbnom aj anaeróbnom prostredí. Teplotné rozmedzie je 18-37°C (prežíva vo vode väčšinou pri 30°C) Na základe pozitívneho oxidázového testu je možné odlíšiť vibriá od enterobaktérií. Podľa typu O-antigénu sa rozlišuje šesť sérologických skupín. *V. cholerae* produkuje enterotoxín spôsobujúci poruchy metabolizmu vody a minerálov v enterocytoch. Ostatné vibriá sú podmienene patogénne, tolerujú slané prostredie (morská voda).



Obr. 102. *Vibrio cholerae*. Farbenie podľa Grama.

http://www.bacteriaiphotos.com/vibrio_cholerae_Gram_stain.html

Patogénny potenciál a imunita

Podľa typu O- antigénu sa rozlišuje šesť sérologických skupín, patogénne sú *V. cholerae* obsahujúce O1antigén. Tieto vibriá sú následne rozdelené do troch sérotypov (Ogawa, Inaba a Hikojima) a dvoch biotypov (Classic a El Tor, rozdelenie je založené na fenotypových a morfológických odlišnostiach). *V. cholerae* s O1 antigénom neprodukuje puzdro. Ostatné vibriá vytvárajú polysacharidové puzdra.

Tabuľka 18. Vibriá – faktory virulencie.

Species	Faktor virulencie	Biologický účinok
<i>Vibrio cholerae</i>	Cholera toxín	- hypersekrecia elektrolytov a vody
	Pilus	- adherencia na bunky črevnej sliznice
	Chemotaktický proteín	- adhezin
	Prídavný cholerový enterotoxín	- zvyšuje sekréciu tekutín v Čreve
	Neuraminidáza	- modifikuje povrch buniek, zvyšuje počet väzbových miest pre cholera toxín
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Hemolyzín	- sekrécia chloridových iónov, vodnatá hnačka
<i>Vibrio vulnificus</i>	Polysacharidové puzdro	- antifagocytárne
	Cytolyzíny Protázy Kolagenázy	- deštrukcia tkaniva

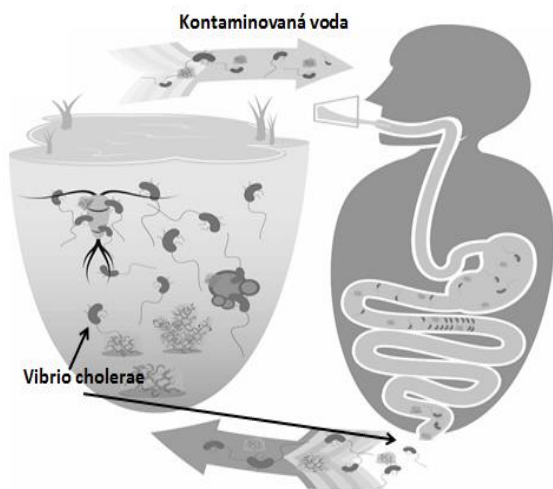
Patogénne vibriá penetrujú slizničnou vrstvou tenkého čreva a adherujú na povrchu enterocytov, kde sa rozmnožujú a produkujú toxín (cholera toxín). Je to komplexný A-B toxín, ktorý aktivuje adenylcyklázu a vedie k nadprodukcii cAMP, výsledkom je hypersekrecia chloridov a vody. Štrukturálne a funkčne je cholera toxín podobný termolabilnému toxínu produkovanému *E. coli*. Acidita žalúdočnej tekutiny zohráva

podstatnú úlohu pri vzniku infekcie. Toxín sa musí viazať na receptory enterocytov, ich neprítomnosť, prípadne sekrečné IgA antitoxické protilátky, môžu zabrániť vzniku ochorenia. Neadherujúce a nepohyblivé vibriá sú nepatogénne. Vibriá sa prirodzene vyskytujú vo vodách, priamy prenos z človeka na človeka je neobvyklý, pretože k vzniku infekcie je potrebná vysoká infekčná dávka mikróbov ($>10^8$). U osôb s achlórhydriou alebo hypochlórhydriou je infekčná dávka nižšia (10^3 - 10^5). Cholera sa vyskytuje v komunitách so zníženým hygienickým štandardom.

Ochorenia

Príznaky cholery sú pomerne nešpecifické - kŕčovitá bolesť brucha, vodnatá hnačka (až jeden liter za hodinu), horúčka, nevoľnosť a vracanie. Výsledkom je dehydratácia, rozvrat vnútorného prostredia a acidóza, ktoré sa klinicky prejavujú smädom, svalovými kŕčmi, slabosťou, zníženým turgorom kože a vpadnutím očných bulbov. Dochádza k veľkým stratám draslíka, k anórii, cirkulačnému kolapsu a cyanóze. Ochorenie v ťažkých prípadoch končí smrťou v dôsledku zlyhania cirkulácie z veľkej straty vody a elektrolytov. Smrť môže nastať v priebehu niekoľkých hodín, najmä u oslabených jedincov a detí.

V. parahaemolyticus vyvoláva mierne, samolimitujúce hnačky, niekedy však môže byť prítomná explozívna vodnatá hnačka. *V. vulnificus* vyvoláva primárnu septicémiu po konzumácii surových ustríc alebo je zodpovedný za infekcie rán, kontaminovaných morskou vodou obsahujúcou tieto mikroorganizmy.



Obr. 103. *Vibrio cholerae* – vznik nákazy u človeka.

<https://www.semanticscholar.org/paper/Staying-Alive%3A-Vibrio-cholerae%27s-Cycle-of-Survival%2C-Conner-Teschler/975359905372d630aba1285ecff5a8ac5c5ae590/figure/0>

Laboratórna diagnostika a liečba

Mikroskopicky je možné v natívnom preparáte zo stolice identifikovať malé pohyblivé, vibrujúce paličky. Na kultiváciu sa používajú krvný agar, selektívne médiá alebo obohatené kultivačné pôdy s pH 8,6. Selektívne médium pre vibriá obsahuje thiosulfát, citrát, žlč a sacharózu. Ako transportná pôda sa používa alkalický bujón. Ostatné vibriá – sú halofilné, vyžadujú pre svoj rast 1% NaCl. Vibriá sú citlivé na tetracyklín, makrolidy, chloramfenikol a cotrimoxazol, antibiotiká sa používajú na debacilizáciu. Liekom voľby je obvykle jedna dávka azitromycínu. Dostupné perorálne vakcíny

neposkytujú dlhodobú ochranu pred ochorením. Infekcie vyvolané aeromonádami sú obvykle dobre citlivé na fluorochinolóny.

Kazuistika

U 43-ročného muža a jeho 46-ročnej manželky, ktorí prežili hurikán Rita v Louisiane, sa tri týždne po prírodnej katastrofe objavila hnačka. Žena mala len miernu hnačku, muž musel byť hospitalizovaný, mal vysokú horúčku, bolesti svalov, bolesti brucha, intenzívnu hnačku, nauzeu, vracal a bol dehydrovaný. Došlo u neho k zlyhávaniu renálnych funkcií a k respiračnému a kardiálnemu zlyhávaniu. Po antibiotickej liečbe a intenzívnej rehydratácii sa muž uzdravil. Mikrobiologické vyšetrenie potvrdilo u oboch pacientov prítomnosť toxigénneho kmeňa *V. cholerae* O1, sérotyp Inaba, biotyp El Tor.

Ako sa pacienti nakazili cholerou?
Aké sú faktory virulencie u *V. cholerae*?
Aké antibiotiká sa používajú na liečbu cholery?

Aeromonas

Charakteristika

Baktérie z rodu *Aeromonas* sú podmienene patogénne mikroorganizmy, morfológicky podobné enterobaktériám. Infikujú pijavice, prenos na človeka sa uskutočňuje pri alternatívnych terapeutických procesoch.



Obr. 104. *Aeromonas* spp.

<http://www.gopetsamerica.com/bio/bacteria/aeromonas-hydrophila.jpg>

Patogénny potenciál a imunita

Baktérie produkujú rôzne faktory virulencie (endotoxíny, hemolýziny, termolabilné a termostabilné enterotoxíny), ich presná úloha v patogenéze ochorenia však nie je známa. Aeromonády sú bežne prítomné vo vodách.

Ochorenia

Aeromonády vyvolávajú hnačky, infekcie rán a systémové infekcie u imunokompromitovaných pacientov (najmä osoby s ochoreniami pečene a žlčových ciest, pacienti s malignitami).

Kazuistika

62-ročnej žene odstránili epitelión na čele, ranu pokryli kožným štepom. Na zmiernenie opuchu v mieste štepu jej prikladali lekárske pijavice. Žena absolvovala štyri procedúry, pijavice boli počas každej z nich ponechané na rane 1 hodinu. O 11 dní po chirurgickom zákroku došlo k infekcii štepu a k jeho následnému odstráneniu. Kultivačným vyšetrením vzoriek zo štepu, tekutiny z kontajnera pre pijavice a aj samotných pijavíc bola zistená prítomnosť *Aeromonas* spp. Pacientka podstúpila parenterálnu liečbu antibiotikami a úspešnú retransplantáciu bez aplikácie pijavíc.

Aké sú základné charakteristiky rodu *Aeromonas*?
Aké ochorenia vyvolávajú aeromonády?

1.9 Campylobacter a Helicobacter

Tieto mikroorganizmy patria medzi častých vyvolávateľov ochorení u ľudí, v súčasnosti sú klasifikované ako dva samostatné rody. Rody *Campylobacter* a *Helicobacter* sú geneticky príbuzné skupiny gramnegatívnych organizmov, charakterizované zahnutým alebo špirálovitým tvarom, ktoré rastú v mikroaerofilnom prostredí.

Rod: *Campylobacter*

druh: *jejuni*

Charakteristika

Baktérie rodu *Campylobacter* sú gramnegatívne, mikroaerofilné, termofilné, úzke, špirálovito zakrútené, pohyblivé paličky (v mikroskopickom preparáte vyzerá ako tlačaná čiarka). Pre človeka sú patogénne najmä *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli*. *Campylobacter* je relatívne málo odolný voči podmienkam vonkajšieho prostredia. Neprežíva teplotu nad 60° C, je tiež citlivý na vysušenie, teploty pod bodom mrazu, pasterizáciu a chlórovanie. Vyvoláva gastroenteritídy a dyzentérie, často ako súčasť polymikrobiálnej etiológie.



Obr. 105. *Campylobacter* spp. – farbenie podľa Grama.

<http://www2.wmin.ac.uk/~redwayk/lectures/images/Campylobacter.gif>

Patogénny potenciál a imunita

Kampylobaktery majú typickú stavbu gramnegatívnych baktérií, bakteriálna stena obsahuje lipopolysacharid s biologickým účinkom endotoxínu, a majú typickú antigénnu štruktúru (K- puzdrový termolabilný antigén, O- somatický termostabilný antigén, H- bičíkový antigén). Rôzne druhy majú rôznu antigénnu štruktúru. Je identifikovaných viac ako 50 K a 60 O antigénnych typov. Baktéria je relatívne virulentná (už 800 buniek vyvolá ochorenie), rozmnožuje sa v čreve a ochorenie vyvoláva pravdepodobne produkciou enterotoxínu.

Ochorenia

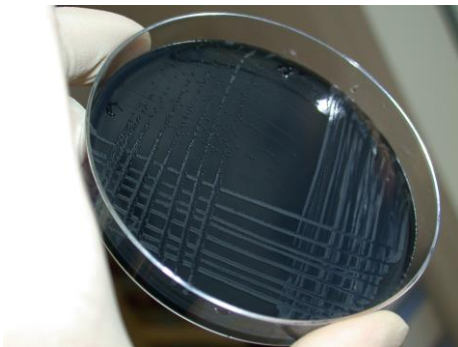
Kampylobakterióza je infekčné ochorenie tráviaceho traktu. Patrí medzi najčastejšie hnačkové ochorenia získané z kontaminovanej potravy. Najviac postihuje deti do jedného roku, mládež a mladých dospelých. Prameňom nákazy je predovšetkým kontaminovaná potrava (hydina, voda, nepasterizované mlieko). Ochorenie sa vyskytuje väčšinou sporadicky, na rozdiel od hromadného výskytu, ktorý je typický pre salmonelózy. Vzniká pri nedodržaní základných hygienických zásad a porušení správnych postupov pri príprave jedál v domácnostiach a vo verejnom stravovaní. Príznaky ochorenia sa objavujú po inkubačnej dobe 1 - 7 dní po skončení kontaminovanej potravy. Hlavným príznakom sú časté, prudké hnačky, kŕčovité bolesti brucha, zvýšená teplota, bolesti hlavy a svalov, niekedy aj zvracanie. Hnačky môžu viesť až k dehydratácii organizmu. Preto je nutné mať dostatočný príjem tekutín. Spočiatku bývajú hnačky vodnaté, neskôr s prímiesou hlienu a krvi. Črevné ochorenie spontánne ustupuje spravidla počas 4 - 6 dní. Septické stavy najčastejšie vyvoláva *Campylobacter fetus*, ktorého rezervoárom sú ovce a hovädzí dobytok. Komplikácie sa objavujú zriedkavo a patria medzi ne zápal žľazy, hnisavé ložiská v iných orgánoch a neskôr aseptické artritídy (neinfekčné zápaly kĺbov).

Tabuľka 19. Kampylobakter a helikobakter – charakteristika.

	<i>Campylobacter</i>	<i>Helicobacter</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - gramnegatívna palička - tenká, zahnutý tvar „S“ - mikroaerofilná - termofilná - pohyblivá 	<ul style="list-style-type: none"> - gramnegatívna palička - tenká, špirálovitý tvar - mikroaerofilná - pohyblivá - produkuje ureázu
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - zoonózy - konzumácia kontaminovanej potravy - interhumánny prenos je nepravdepodobný - akútna enteritída s Hnačkou - septikémia 	<ul style="list-style-type: none"> - človek je primárnym rezervoárom - akútna gastritída - chronická gastritída - pepťický vred - adenokarcinóm žalúdka - MALT lymfóm
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - gramnegatívne paličky v tvare písmena „S“ prítomné v stolici - kultivačný dôkaz na špeciálnych médiách pri zvýšenej teplote (termofilné) - zvýšený obsah CO₂ pri kultivácii 	<ul style="list-style-type: none"> - mikroskopia bioptických vzoriek žalúdočnej sliznice - test na produkciu ureázy - ureázová dychová skúška - detekcia antigénu <i>H. pylori</i> v stolici - kultivácia v mikroaerofilnom prostredí, málo senzitívna
Prevencia	<ul style="list-style-type: none"> - dostatočná tepelná úprava Jedla - pasterizácia mlieka - zabrániť kontaminácii vody 	<ul style="list-style-type: none"> - zabrániť prenosu od infikovaného človeka - hygienické opatrenia
Liečba	<ul style="list-style-type: none"> - erytromycín - azitromycín 	<ul style="list-style-type: none"> - kombinovaná - inhibítor proteínovej pumpy (omeprazol)+ makrolid (klaritromycín) + β-laktámové antibiotikum (amoxicilín) podávané 2 týždne

Laboratórna diagnostika a liečba

Vzorku biologického materiálu je potrebné kultivovať na špeciálnych médiách v definovaných podmienkach (5% kyslíka, 10% kyslíčnika uhličitého, 85% dusíka a teplota 42°C, nutričné faktory a antibiotiká na potlačenie sprievodnej črevnej flóry). Suspektné kolónie sú šedavé, hladké. Mikroskopicky majú typický tvar čiarky. V niektorých laboratóriách sa považuje za signifikantný nález leukocytov v stolici ako indikátor kampylobakterovej infekcie. V liečbe infekcie sa podávajú antibiotiká, zvlášť u veľmi malých detí s ťažkým a dlhšie trvajúcim priebehom ochorenia. Baktéria je dobre citlivá na erytromycín a tetracyklín. Dôležitý je dostatočný príjem tekutín.



Obr. 106. *Campylobacter jejuni* – kultivácia.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/aa/Campylobacter_jejuni.jpg

Kazuistika

Matka a jej 4-ročný syn prišli do pohotovostnej ambulancie, obaja mali hnačku trvajúcu 1 deň a bolesti brucha. Obaja mali horúčku, u syna bola zreteľná prítomnosť krvi v stolici. Symptómy sa objavili asi 15 hodín po konzumácii zeleninového šalátu s kuracím mäsom, kukurice, chleba a jablkového džúsu. Hemokultivačné vyšetrenie krvi matky aj syna bolo negatívne, ale zo stolice sa kultivačne potvrdila prítomnosť *C. jejuni* u oboch pacientov.

Ktoré zo skonzumovaných jedál bolo pravdepodobne príčinou ochorenia?

Aká je mikrobiologická diagnostika *C. jejuni*?

Aká je liečba gastroenteritídy a septicémie vyvolanej *C. jejuni*?

Rod: *Helicobacter*

druh: *pylori*
cinnaedi
fennelliae
heilmanii

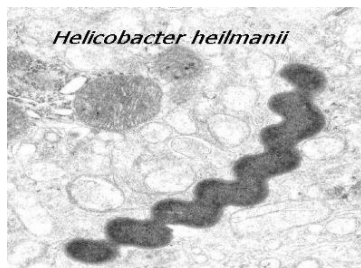
Charakteristika

Helikobaktery sa rozdeľujú na dve skupiny:

- primárne kolonizujúce žalúdok (*H. pylori*)
- primárne kolonizujúce črevo (*H. cinnaedi*, *H. fennelliae*)

H. pylori je špirálovitá až pleiomorfna pohyblivá gramnegatívna palička súvisiaca s gastritídou typu B, žalúdočným alebo duodenálnym vredom, prípadne s karcinómom žalúdka.

* *Helicobacter heilmannii* (v minulosti známy ako *Gastrospirillum hominis*) vyvoláva menej ako 1% infekcií žalúdočnej sliznice, bol dokázaný prenos na človeka od domácich zvierat.



Obr. 107. *H. heilmannii*.

http://www.helicobacter.org/content/faq/images_heilmannii.htm

Patogénny potenciál a imunita

H. pylori je čisto ľudský patogén, infekcia sa šíri priamym prenosom z človeka na človeka oro-orálnou alebo oro-fekálnou cestou, alebo nepriamo, prostredníctvom kontaminovaných predmetov (príbory, kontaminované potraviny). Infekcia patrí k ochoreniam, ktoré majú súvis so sociálno-ekonomickou úrovňou populácie, a tým aj s konkrétnymi hygienickými podmienkami a návykmi.

Najdôležitejším patogénnym mechanizmom je motilita baktérie a schopnosť produkovať enzým ureázu. Štiepením urey vytvára oblak amoniaku, ktorý chráni baktériu pred účinkom žalúdočnej tekutiny. Pohyblivosť baktérie a tvorba mucinázy umožňuje jej prienik do submukózy, kde adhuje špecificky na intracelulárne spoje. Dochádza k zápalovej reakcii s infiltráciou mononukleárov do lamina propria. Svojou lokalizáciou v mukóze uniká účinkom prítomných slizničných protilátok. *H. pylori* obsahuje lipid A s nízkou endotoxínovou aktivitou.

Tabuľka 20. Helikobakter – zdroj infekcie a ochorenia u človeka.

Species	Známy rezervoár	Ochorenie u človeka
<i>H. pylori</i>	človek, primáty, ošípané	- gastritída - peptický vred - adenokarcinóm - MALT lymfóm z B - buniek
<i>H. cinaedi</i>	človek, škrečok	- gastroenteritída - septikémia - proktokolitída
<i>H. fenneliae</i>	človek	- gastroenteritída - septikémia - proktokolitída

Ochorenia

Helicobacter pylori je jedným z hlavných rizikových faktorov vzniku vredovej choroby žalúdka a karcinómu žalúdka. Medzi typické klinické príznaky patria pocit ťažkého žalúdka, pálenie záhy, nafukovanie, zápcha či nepravidelné vyprázdňovanie, zvýšená

únava, kožné prejavy (akné, začervenanie a svrbenie kože či ekzematoidný výsev). Infekcia *H. pylori* je spojená aj s výskytom MALT lymfómu (MALT – slizničné lymfatické tkanivo, angl. Mucosa Associated Lymphoid Tissue). *H.cinnaedi*, *H. fennelliae* vyvolávajú gastroenteritídy a bakterémiu, najmä u osôb s poruchami imunity (pacienti s AIDS).

Laboratórna diagnostika a liečba

V praxi sa na potvrdenie infekcie *H. pylori* využíva mikroskopický dôkaz v preparáte z endoskopicky získanej vzorky po ofarbení hematoxilín-eozínom alebo Gramovým farbením. Záchytnosť je dobrá pri správnom odbere. Falošne pozitívne výsledky sú možné pri nedostatočnej dekontaminácii endoskopov.

Ureázový test je založený na laboratórnej detekcii alkalických metabolitov ureázovej aktivity. Je to rýchly test z bioptického materiálu. Dychová skúška detekuje v dychu metabolity ureázovej aktivity baktérie (po podaní značenej močoviny). Kultivácia z bioptického materiálu sa v praxi nevyužíva. *Helicobacter* vyžaduje obohatené médiá (krv, hemín, aktívne uhlie) a definované prostredie. Pôsobenie inhibítorov používaných na dezinfekciu endoskopov môže byť dôvodom falošnej negativity kultivácie. Na nepriamu diagnostiku (sérologické vyšetrenie) sa využíva dôkaz špecifických IgA protilátok (pozitívny výsledok svedčí o expozícii a vyžaduje správnu interpretáciu). Prítomnosť IgA protilátok proti *H. pylori* neodlíši akútne a prekonané ochorenie, hladina nekoreluje so závažnosťou ochorenia. Cieľom liečby je eradikácia baktérií, v prvej línii sa používa trojkombinačná (omeprazol, klaritromycín a amoxicilín), v druhej línii štvorkombinačná terapia (omeprazol, bizmut subsalicilát, metronidazol a tetracyklín). I. a II. lúnia liečby sú rovnocenné možnosti. V odôvodnených prípadoch je možné eradikačnú liečbu predĺžiť na 10 až 14 dní.

Kazuistika

V roku 1984 austrálski lekári Marshall a Warren predstavili objav, ktorý úplne zmenil prístup k liečbe gastritídy a vredovej choroby žalúdka a položil základy pre pochopenie príčiny vzniku adenokarcinómu žalúdka a lymfómov z mukózy asociovaného lymfoidného tkaniva. Analýzou bioptických vzoriek žalúdočnej sliznice odobratých od 100 pacientov sa u 58 z nich potvrdila prítomnosť gramnegatívnych zahnutých paličiek pripomínajúcich kampylobaktery. Tieto mikroorganizmy boli prítomné u pacientov s aktívnou gastritídou a s gastrickými a duodenálnymi vredmi. Lekári zistili a potvrdili, že viac ako 90% prípadov gastritíd a takmer 80% prípadov gastrických vredov je vyvolaných baktériou *H. pylori*. Za tento objav boli ocenení Nobelovou cenou.

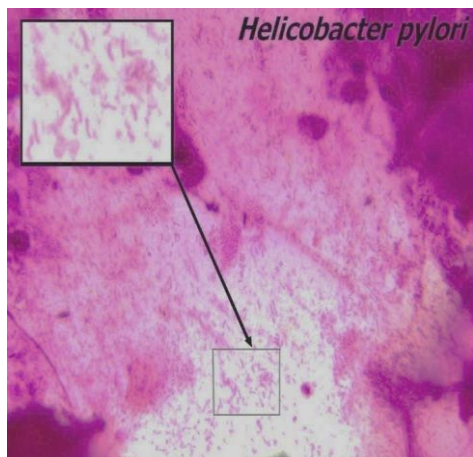
Aké sú všeobecné charakteristiky *H. pylori*?
Ako sa prenáša *H. pylori*?
Aká je mikrobiologická diagnostika *H. Pylori*?
Ako sa lieči infekcia žalúdka vyvolaná *H. pylori*?

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopia *H. pylori*

Mikroskopujte preparát pripravený z biotického materiálu (sliznica žalúdka).

H. pylori je nesporulujúca, gramnegatívna palička s charakteristickým špirálovitým tvarom. Je 2,5 – 5 µm dlhá a 0,5 – 1,0 µm široká. Na jej jednom konci sa nachádza 3-6 (30 µm) bičíkov, pomocou ktorých sa pohybuje.



Obr. 108. *H. pylori* – mikroskopia biologického materiálu.

<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.sk/2013/02/helicobacter-heilmanii.html>

B. Ureázový test

H. pylori produkuje množstvo enzýmov, v diagnostike sa využíva najmä tvorba ureázy, ktorá umožňuje prežívanie v kyslom prostredí žalúdka. Princíp satanovenia ureázovej aktivity je opísaný v kapitole Enterobacteriaceae v časti Úlohy na praktické cvičenia.



Obr. 109. *H. pylori* – pozitívny urázový test (vpravo).

<http://edusanjalmedmicro.blogspot.sk/2013/05/urea-hydrolysis-urease-test.html>

OTÁZKY

1. Aké vlastnosti sú typické pre enterobaktérie?
2. Ktoré antigény enterobaktérií poznáte?
3. Aké postupy sa používajú na identifikáciu enterobaktérií?
4. Aký je význam endotoxínu u enterobaktérií?
5. Ktoré mechanizmy chránia tráviaci systém pred patogénnymi enterobaktériami?
6. Aké infekcie gastrointestinálneho traktu vyvoláva *E. coli*?
7. Aké extraintestinálne infekcie vyvoláva *E. coli*?
8. Akým spôsobom vyvolávajú infekcie šigely?
9. Ako sa liečia infekcie vyvolané šigelami?
10. Ako sa klasifikujú salmonely?
11. Aké infekcie vyvolávajú salmonely?
12. Ako sa identifikujú salmonely?
13. Ako sa liečia salmonelózy?
14. Aké sú klinické prejavy brušného týfusu?
15. Čo je charakteristické pre klebsiely?
16. Charakterizujte infekcie vyvolané klebsielami.
17. Ktoré vlastnosti sú typické pre baktérie z rodu *Proteus*?
18. Aké infekcie vyvolávajú *P. mirabilis* a *P. vulgaris*?
19. Aké infekcie vyvolávajú yersínie?
20. Aké pôdy sa používajú na kultiváciu enterobaktérií?
21. Ktoré testy sa používajú na odlišenie jednotlivých enterobaktérií?
22. Ako prebieha cholera a ako sa prenáša?
23. Ako účinkuje cholerový enterotoxín?
24. Ako sa lieči cholera?
25. Aké vlastnosti sú typické pre rod *Aeromonas*?
26. Aké sú všeobecné vlastnosti kampylobakterov?
27. Aké ochorenia vyvoláva *C. jejuni* a ako sa prenášajú?
28. Aké sú charakteristiky *H. pylori*?
29. Ako sa prenáša infekcia vyvolaná *H. heilmanii*?
30. Ako sa identifikuje *H. pylori*?
31. Aké princípy sa dodržujú v liečbe infekcií vyvolaných *H. pylori*?

1.10 Nefermentujúce gramnegatívne paličky

Pseudomonády a príbuzné baktérie

Rod: *Pseudomonas*

druh: *aeruginosa*

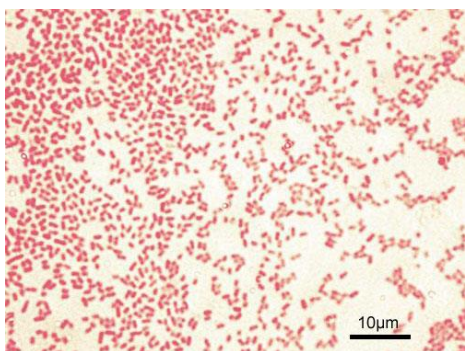
Rod: *Burkholderia*

Rod: *Stenotrophomonas*

Pseudomonas

Charakteristika

Pseudomonády sú gramnegatívne paličky, pohyblivé, obvykle striktne aeróbne so slabou biochemickou aktivitou (nefermentujúce paličky). Sú veľmi odolné voči vonkajším podmienkam, znášajú vysokú koncentráciu soli, farbivá, niektoré antiseptiká a sú rezistentné na väčšinu antibiotík. Sú schopné rásť pri zvýšenej teplote (42°C). Sú oxidáza-pozitívne, čím sa odlišujú od príslušníkov čeľade *Enterobacteriaceae*. Existuje viac ako 140 druhov pseudomonád. Obvykle sú to saprofytické mikroorganizmy prítomné vo vonkajšom prostredí (voda pitná aj bazénová, pôda, rastliny, kvety). Vo vzťahu k ochoreniam ľudí sú považované za podmienené patogénne mikroorganizmy s výnimkou dvoch patogénnych zástupcov, *P. mallei* a *P. pseudomallei*, ktoré sú etiologickým agensom špecifických ochorení melidióza resp. pseudomelidióza. Ostatné pseudomonády a nefermentujúce gramnegatívne paličky sú medicínsky významné, pretože spôsobujú závažné infekcie u pacientov so zníženou imunitou (infekcie u pacientov s cystickou fibrózou) a u hospitalizovaných pacientov (nozokomiálne infekcie).



Obr. 110. *P. aeruginosa* – farbenie podľa Grama.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2d/Pseudomonas_aeruginosa_Gram.jpg

Patogénny potenciál a imunita

Pseudomonády majú typickú stavbu gramnegatívnych baktérií (lipopolysacharid s biologickým účinkom endotoxínu, O-antigén a H-antigén). Niektoré tvoria polysacharidové puzdro. Produkujú viacero exoenzýmov zodpovedných za patogenitu:

- hemnolyzín, leukocidín, proteázy, fosfolipáza C
- toxín A (ADP ribozyltransferáza) - spôsobuje ribozyláciu translačného EF 2 faktora čím dochádza k strate schopnosti proteosyntézy hostiteľskej bunky (mechanizmus podobný účinku difterického toxínu)
- exoenzým S

Polysacharidové puzdro pseudomonád má antifagocytárne vlastnosti. Mnohé pseudomonády produkujú pigment (pyocyanín, pyoverdín, pyorubín). Povrchové fimbrie sú dôležité pri adherencii na sliznice a kožu. *Pseudomonas aeruginosa* spôsobuje lokalizované infekcie chirurgických rán, popálenín, kože a slizníc (chronická otitis externa, otitis media – plavárenské ucho), často progredujúcich až do fatálnej bakterémie, najmä ak infikujú pacientov s imunodeficitom. Sú častými vyvolávateľmi nozokomiálnych infekcií močového traktu (po katetrizácii) alebo pneumónií (z kontaminovaných respirátorov). Najúčinnším mechanizmom nešpecifickej imunity je fagocytóza polymorfonukleárnymi leukocyty. Aktivácia komplementu je často neúčinná. Vývoj špecifickej antitoxickej imunity je dôležitý na úspešné zvládnutie infekcie.

Tabuľka 21. *Pseudomonas aeruginosa* – faktory virulencie.

<i>P. aeruginosa</i> / Faktor virulencie	Biologický efekt
Pili	- adherencia na epitel dýchacích ciest
Polysacharidové puzdro	- antifagocytárne vlastnosti - adherencia na tracheálny epitel
Endotoxín	- septické syndrómy: horúčka, šok, oligúria, leukopénia alebo leukocytóza - diseminovaná intravaskulárna koagulopatia - metabolické poruchy
Exotoxín A	- inhibícia proteosyntézy
ExoenzýmS	- inhibícia proteosyntézy
Alkalická proteáza	- tkanivové poškodenie - antikomplementový účinok - inaktivácia IgG - inhibícia neutrofilov
Fosfolipáza C	- tkanivové poškodenie
Leukocidín	- inhibícia neutrofilov - inhibícia lymfocytov
Elastáza	- poškodenie ciev - inhibícia neutrofilov

Ochorenia

Pseudomonády sú oportúnne patogény. Obvykle sú to saprofytické mikroorganizmy prítomné vo vonkajšom prostredí (voda pitná aj bazénová, pôda, rastliny, kvety). Osoby s postihnutým imunitným systémom, ako napríklad pacienti infikovaní HIV, príjemcovia transplantátov a pacienti s popáleninami, sú zvlášť riziková pre vznik pseudomonádových infekcií a mortalita u nich môže byť vysoká (napríklad až 90 % pri infekciách srdca). **Nozokomiálne infekcie** spôsobené *P. aeruginosa* sú bežné na jednotkách intenzívnej starostlivosti a môžu viesť k fatálnej **pneumónii**, pri ktorej pacienti trpia produktívnym kašľom, triaškou, dýchacími ťažkosťami a cyanózou. Medzi ďalšie infekcie spôsobené pseudomonádami patria **infekcie močového traktu**

(často po katetrizácii alebo chirurgickej operácii), **infekcie mozgu** (abscesy a meningitída), **infekcie očí a uší**.

Plavárenské ucho je infekcia vonkajšieho zvukovodu, u starších pacientov sa môže vyvinúť až život ohrozujúca infekcia ucha, ktorá môže spôsobiť paralýzu tvárových svalov.

Abrázia rohovky môže viesť k infekcii a k tvorbe vredov na rohovke, ktoré, pokiaľ sa neliečia, vedú k ťažkému poškodeniu alebo až k strate zraku. Niektoré očné prípravky a dlhodobé používanie kontaktných šošoviek môžu vyvolať opakovanie infekcie.

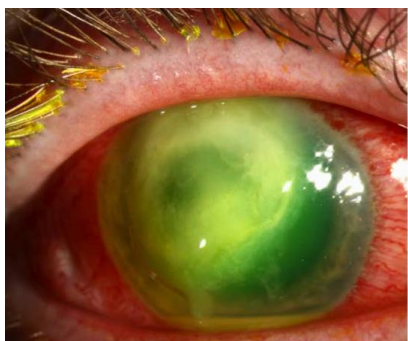


Obr. 111. Plavárenské ucho.

<http://diyhealth.com/swimmers-ear-infection.html>

Laboratórna diagnostika a liečba

Kultivačný dôkaz pseudomonád je nenáročný. Kultivácia je úspešná na krvnom agare alebo na selektívnych pôdach pre gramnegatívne paličky. Identifikáciu uľahčuje prítomnosť charakteristických pigmentovaných kolónií, (zelenožltý, modrozelený, pigment, fluorescencia, ovocná alebo kvetinová vôňa). Sú biochemicky málo aktívne (nefermentujúce), od gramnegatívnych enterobaktérií sú odlišiteľné pozitívnou oxidázovou aktivitou. *Pseudomonas aeruginosa* rastie aj pri teplote 42°C. Penicilínové antibiotiká so zvýšenou účinnosťou voči pseudomonádam – meropenem, karbenicilin v kombinácii s gentamycínom alebo tobramycínom sú obvykle účinné. In vitro účinné aminoglykozidy nemusia dosiahnuť potrebnú aktivitu v mieste infekcie in vivo, pretože kyslé prostredie v abscesoch znižuje ich účinnosť. Systémové pseudomonádové infekcie sú život ohrozujúce aj vzhľadom na rezistenciu nozokomiálnych kmeňov (vždy je potrebné stanovenie citlivosti) a imunitný stav pacientov.



Obr. 112. Infekcia oka vyvolaná kontaktnou šošovkou infikovanou *P. aeruginosa*.

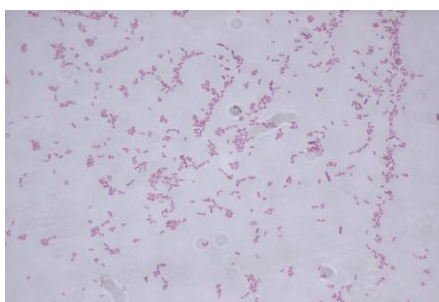
<https://webeye.ophth.uiowa.edu/eyeforum/cases/171-Pseudomonas-keratitis.htm>

Ostatné nefermentujúce gramnegatívne paličky

Acinetobacter baumannii je súčasťou fyziologickej flóry orofaryngu. Od pseudomonád je odlišiteľný na základe negatívneho cytochrómozidázového testu. Ako podmienené patogénny mikroorganizmus je vyvolávateľom nozokomiálnych respiračných infekcií, infekcií močového traktu a rán, môže vyvolať septikémiu. Prežíva vo vonkajšom vlhkom prostredí (kontaminácia respirátorov). Je citlivý na aminoglykozidy, amikacín, imipenem. Je prirodzene rezistentný na nitrofurány a trimetoprim.

Burkholderia cepacia patrí medzi oportúnne patogénne baktérie, pre svoj rast vyžaduje zvýšenú tenziu CO₂. Je často izolovaná z hemokultúr pacientov. Vyvoláva infekcie pľúc, u pacientov s cystickou fibrózou sa môže vyskytnúť masívna deštrukcia pľúcneho tkaniva. U pacientov s katétami a u imunokompromitovaných osôb vyvoláva infekcie močových ciest alebo bakterémiu. *Burkholderia* je dobre citlivá na trimetoprim-sulfametoxazol (pseudomonády sú rezistentné). Je prirodzene rezistentná na aminoglykozidy a kolistín.

Stenotrophomonas maltophilia vyvoláva oportúnne nozokomiálne infekcie (bakterémie, pneumónie), najčastejšie u imunokompromitovaných pacientov po predchádzajúcej liečbe širokospektrálnymi antibiotikami. Baktéria je rezistentná na aminoglykozidy, betalaktámové antibiotiká, imipenem, fluorochinolóny a citlivá na chloramfenikol, kotrimoxazol.



Obr. 113. *Stenotrophomonas maltophilia* – farbenie podľa Grama.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/84/Stenotrophomonas_maltophilia.jpg

Kazuistika

63-ročný muž bol 21 dní hospitalizovaný kvôli liečbe leukémie. Počas hospitalizácie mal pacient infekciu močového traktu vyvolanú *E. coli*, ktorá bola liečená 14 dní širokospektrálnymi antibiotikami. Pacient na 21. deň dostal horúčku, triašku, mal zimnicu. V priebehu ďalších 24 hodín sa vyvinula hypotenzia a na koži sa objavili lézie. Vzorky krvi odobraté na kultivačné vyšetrenie boli pozitívne s nálezom *P. aeruginosa*. Aj napriek intenzívnej terapii antibiotikami pacient zomrel.

Ktoré faktory u tohto pacienta predstavovali zvýšené riziko infekcie *P. aeruginosa*?

Aké faktory virulencie produkuje *P. aeruginosa*?

Aké infekcie vyvolávajú *Acinetobacter baumannii* a *Stenotrophomonas maltophilia*?

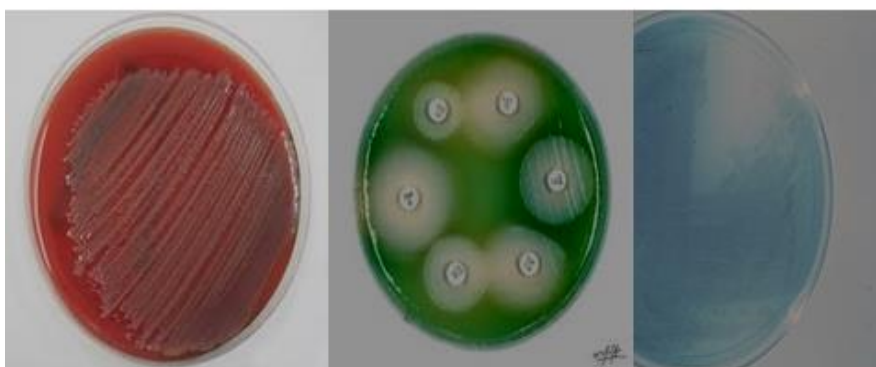
Úlohy na praktické cvičenia

A. Kultivácia

P. aeruginosa – produkcia pigmentov

Mnohé pseudomonády produkujú pigment, niektoré druhy pigmentov fluoreskujú (pyocyanín, pyoverdín, pyorubín). Pigmentované kolónie sú viditeľné na pôdach bez prídavku krvi. Na krvnom agare rastú vo forme nepravidelných kolónií s perleťovým leskom, ktoré sú obklopené zónou úplnej hemolýzy (β -hemolýza). Kultúry majú charakteristickú vôňu (ako ovocie, jazmín, lipový kvet).

Pseudomonas aeruginosa



perleťové kolónie-krvný agar

zelený pigment – pyoverdín

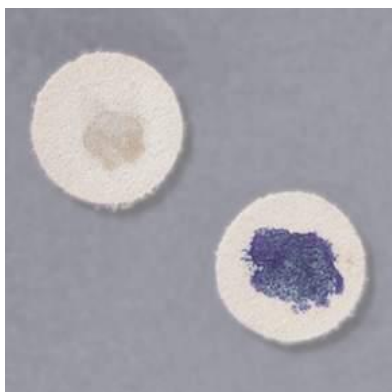
modrý pigment - pyocyanín

Obr. 114. *P. aeruginosa* – kultivácia, pigmentované kolónie.

<http://www.google.sk/images?hl=sk&biw=1024&bih=585&q=pseudomonas%20aeruginosa%20pictures&um=1&ie=UTF-8&source=og&sa=N&tab=wi>

B. Oxidázový test

Filtračný papier napustený parafenylendiamínom a alfa-naftolom priložíme na vyšetrovanú kolóniu alebo priamo na papierik nanesieme vyšetrovanú kolóniu sterilnou bakteriologickou kľučkou. Pozitívny výsledok sa prejaví zmodraním indikačného papierika. *P. aeruginosa* ma pozitívnu oxidázovú reakciu, test sa používa na odlíšenie *P. aeruginosa* od ostatných gramnegatívnych paličiek z čeľade *Enterobacteriaceae*.



Obr. 115. *P. aeruginosa* – pozitívny oxidázový test (vpravo).

http://www.fishersci.com/ecommerce/servlet/fsproductdetail_10652_15005403__-1_0

OTÁZKY

1. Aká je morfológia *P. aeruginosa*?
2. Aká je odolnosť *P. aeruginosa* na vonkajšie vplyvy?
3. Aké infekcie vyvoláva *P. aeruginosa*?
4. Aké sú charakteristické vlastnosti *P. aeruginosa*?
5. Opíšte kultiváciu *P. aeruginosa*.
6. Ktoré antibiotiká sa používajú v liečbe pseudomonádových infekcií?
7. Aké infekcie vyvolávajú ostatné nefermentujúce paličky?

1. 11 Ostatné gramnegatívne paličky

Brucely

Rod : *Brucella*
druh: *abortus*
melitensis
suis
canis

Charakteristika

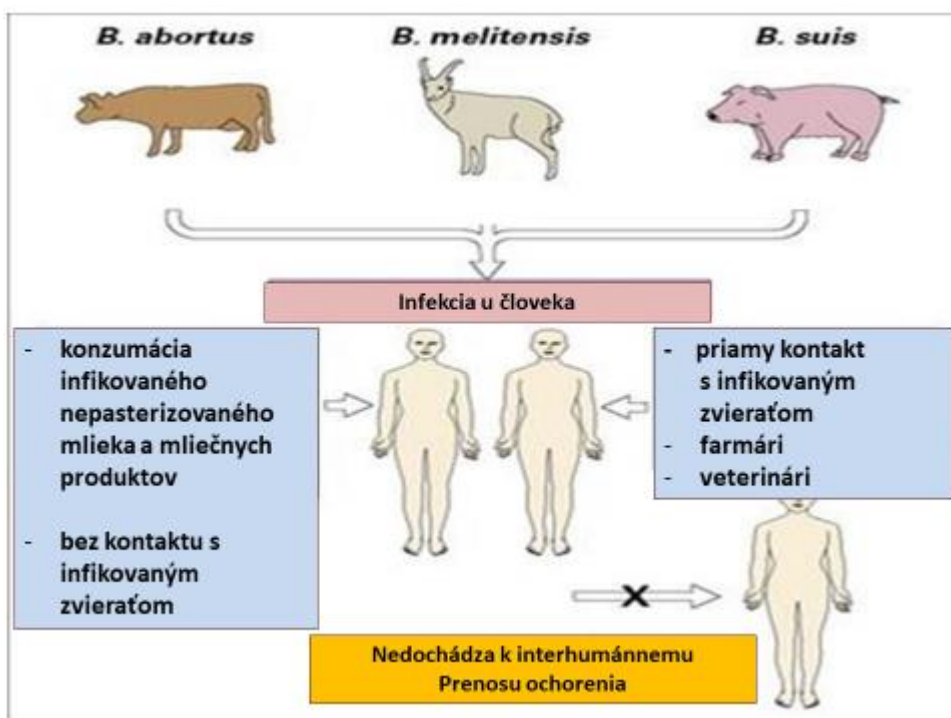
Baktérie z rodu *Brucella* sú zvieracie patogény, ktoré môžu vyvolať závažné infekcie aj u ľudí. Ľudské ochorenia najčastejšie vyvolávajú *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*. Prvotná infekcia zvierat prebieha najmä v tkanivách s prítomnosťou erythriolu, ktorý baktéria využíva ako zdroj energie (placenta, mliečna žľaza). U ľudí sa vyskytuje ako sporadická infekcia (Bangova choroba, vyvolávateľom je *B. abortus*) alebo endemická infekcia, ktorej vyvolávateľom je *B. melitensis* - Maltská horúčka. Brucely sú intracelulárne gramnegatívne kokoidné až paličkovité mikroorganizmy, nepohyblivé, neopuzdrené, pomaly rastúce, metabolicky málo aktívne. Obsahujú lipopolysacharid s endotoxínovou aktivitou a majú dva dôležité sérologické antigény A a M.

Tabuľka 22. Brucela – charakteristika.

	<i>Brucella spp.</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none">- gramnegatívna palička- intracelulárny patogén- prežíva v makrofágoch a v bunkách RES
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none">- zoonózy- lokalizované abscesy, bakterémia, intermitentná horúčka
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none">- kultivačný dôkaz na obohatenom krvnom agare- sérologická diagnostika: stanovenie titra protilátok IgM, IgA, IgG
Prevencia	<ul style="list-style-type: none">- pasterizácia mlieka- kontrola chovaných zvierat- ochranné oblečenie pri manipulácii so zvieratami
Liečba	<ul style="list-style-type: none">- tetracyklín v kombinácii so streptomycínom alebo gentamicínom

Patogénny potenciál a imunita

Brucely obsahujú lipopolysacharid s endotoxínovou aktivitou a majú dva dôležité sérologické antigény A a M. U ľudí sa baktérie po infekcii lokalizujú v abscesoch, neskôr sú prítomné v krvi (bakterémia). Fagocytóza makrofágmi a intracelulárne pomnožovanie vedú k ich lokalizácii v bunkách orgánov RES. Najvirulentnejšia je *B. mellitensis*. Infekcia má subakútny alebo chronický charakter s tvorbou granulómov následkom hypersenzitívnej reakcie. V obrannej odpovedi sa uplatňuje bunkami sprostredkovaná imunita (T lymfocyty, aktivované makrofágy). Protilátková imunita má len minimálnu úlohu.



Obr. 116. Prenos infekcií vyvolaných Brucelami.

Ochorenia

B. abortus a *B. canis* vyvolávajú mierne ochorenia so zriedkavými komplikáciami. *B. suis* a *B. melitensis* spôsobujú deštruktívne lézie, infekcie majú prolongovaný priebeh. Akútna infekcia sa vyvíja asi u polovice infikovaných pacientov, iniciálne symptómy sú nešpecifické (únava, potenie, bolesti svalov, bolesti kĺbov, neproduktívny kašeľ), takmer všetci pacienti majú horúčku, u neliečených osôb má horúčka undulujúci priebeh – **febris undulans**. Chronická infekcia sa vyvíja za 3 – 6 mesiacov u neliečených pacientov, relapsy sú obvykle spojené s perzistujúcimi infekčnými ložiskami (v kostiach, v pečeni alebo v slezine).

Laboratórna diagnostika a liečba

Izolácia brucel je možná z krvi pri predĺženej kultivácii (2-3 týždne) na obohatenom krvnom agare s pridaním bázičných farbív v atmosfére s 5% -10% CO₂. Časté subklinické prípady sa potvrdia sérologickými testami, suspektné sú aglutinačné titry nad 160, prípadne IgM a IgA protilátky v akútnom období (do 3 mesiacov). Subakútne

ochorenie (do 1 roka) je charakterizované perzistujúcimi IgG protilátkami, pomaly klesajúcimi IgM protilátkami a vyrovnanou koncentráciou špecifických protilátok triedy IgA. Pre chronické ochorenie sú charakteristické stabilné hladiny IgG, IgA, IgM protilátok. Akútna exacerbácia chronického ochorenia sa prejaví vzostupom hladín IgG aj IgM protilátok. Brucely sú citlivé na tetracyklínové preparáty v kombinácii so streptomycínom alebo gentamycínom, prípadne sa dlhodobo podávajú vysoké dávky kotrimoxazolu.



Obr. 117. *Brucella* spp. – kolónie na krvnom agare.

<http://blogs-cdn.fas.org/wp-content/uploads/2010/05/brucella-petri-dish.jpg>

Kazuistika

28-ročná žena vyhľadala lekárske ošetrovanie pre rekurentnú bolesť hlavy, horúčku a celkovú nevoľnosť. Príznaky sa objavili po tom, ako spracovávala koziu placentu. Pacientke bola odobratá krv na kultivačné vyšetrenie, ktoré po predĺženej kultivácii potvrdilo prítomnosť *B. melitensis*. Pacientka bola liečená doxycyklinom a rifampicínom 6 týždňov, uzdravila sa.

Ako sa človek môže nakaziť brucelózou.
Aká je mikrobiologická diagnostika brucelózy?
Aké ochorenia vyvolávajú Brucely?

Francisella

Rod: *Francisella*

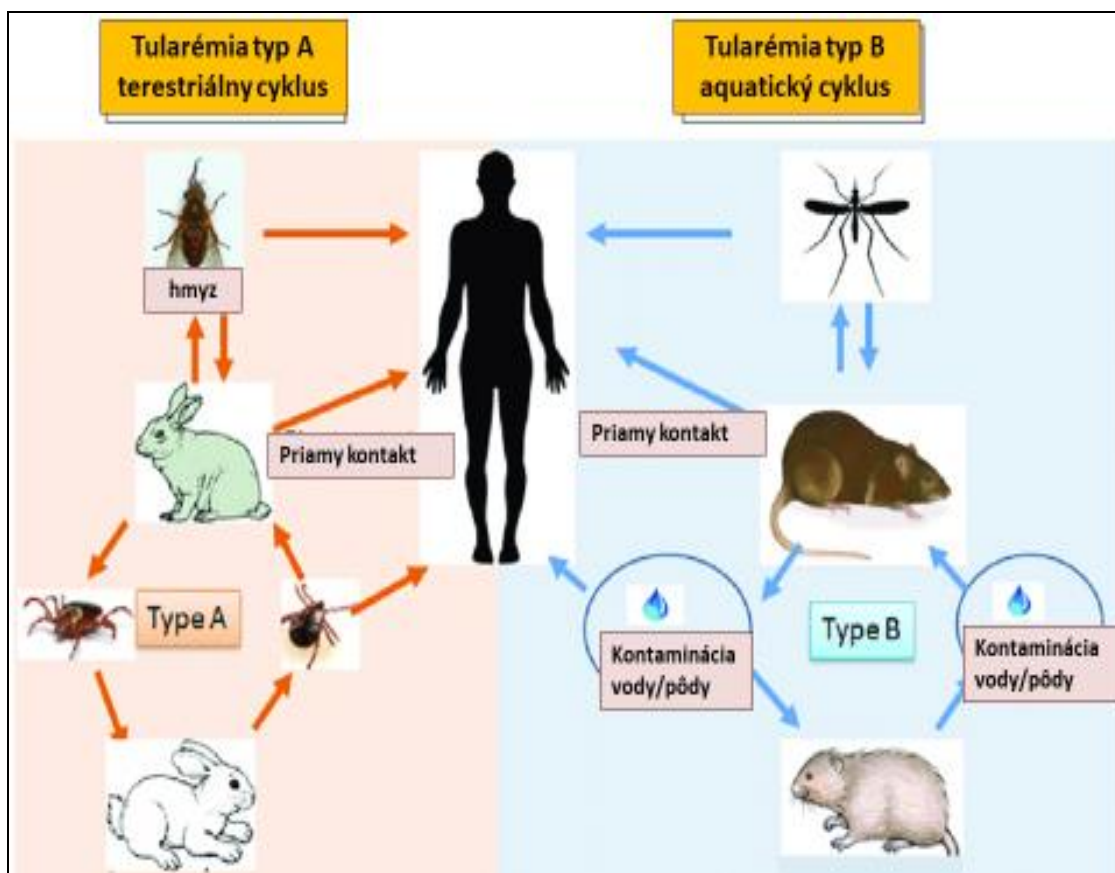
druh: *tularensis*

Charakteristika

F. tularensis je rozšírená po celom svete. Baktérie sú gramnegatívne, nepohyblivé, kultivačne náročné kokobacily, ktoré vyvolávajú tularémiu - zoonózu prenosnú na človeka. Sú striktne aeróbne, nefermentujúce, produkujú lipidové puzdro s antifagocytárnymi vlastnosťami. Franciselly sú intracelulárne parazity. Rezervoárom infekcie sú divé a domáce zvieratá, vtáky, ryby, hmyz. Infekcia sa na človeka najčastejšie prenáša zo zajacov alebo mačiek.

Patogénny potenciál a imunita

Povrchové lipidové puzdro má výrazné antifagocytárne vlastnosti a stimuluje bunkovú imunitu. Vyvoláva hypersenzitivitu oneskoreného typu, ktorá sa dokazuje kožným testom s použitím puzdrového lipidu ako antigénu na testovanie bunkovej špecifickej imunity – tularínový test. Francisella je intracelulárny parazit, prežívajúci v makrofágoch. Lipopolysacharid bunkovej steny má biologické vlastnosti endotoxínu. Virulencia závisí na spôsobe vniknutia baktérie do organizmu: infekčná dávka pri inhalácii je 50 organizmov, pri pohryznutí menej ako 10, pri prehltnutí 10^6 mikroorganizmov. Veľmi nebezpečné sú laboratórne infekcie, baktérie prenikajú kožou a sliznicami.



Obr. 118. Tularémiu – spôsob prenosu

Ochorenia

Infekcie vyvolané *F. tularensis* sa rozdeľujú podľa klinickej manifestácie na niekoľko foriem:

1. **ulceroglandulárna** forma – kožné ulcerácie, zdurené regionálne lymfatické uzliny
2. **okuloglandulárna** forma – postihnutie oka, zdurenie krčných lymfatických uzlín
3. **glandulárna** forma- primárne postihnutie lymfatických uzlín bez iných symptómov
4. **pľúcna** forma – postihnutie pľúc po inhalácii baktérií, vysoká morbidita a mortalita
5. **orofaryngeálna a gastrointestinálna** forma – po ingescii baktérií.
6. **tyfoidná** forma – systémové príznaky sepsy

Jednotlivé formy infekcií sa môžu vyskytovať aj v kombináciách, pre pľúcne infekcie sú typické systémové príznaky sepsy. *F. tularensis* patrí medzi mikroorganizmy, ktoré je možné využiť ako biologickú zbraň.



Obr. 119. Tularémia – kožná lézia.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6a/Tularemia_lesion.jpg

Laboratórna diagnostika a liečba

Odber a spracovanie vzoriek na mikrobiologické vyšetrenie si vyžaduje zvýšenú pozornosť, pretože predstavuje zvýšené riziko pre lekára aj pacienta - mikroorganizmy môžu preniknúť cez neporušenú kožu alebo môžu byť vdýchnuté. Laboratórna diagnostika si vyžaduje použitie špeciálnych boxov na prácu s nebezpečným biologickým materiálom. Mikroskopia z biologického materiálu potvrdí prítomnosť slabo sa farbiacich baktérií, citlivosť mikroskopického vyšetrenia je možné zvýšiť použitím fluoresceínom značených protilátok. Na kultiváciu sa používa čokoládový agar alebo krvný agar obohatený cysteínom, je potrebný predĺžený čas inkubácie (2-3 dni) za aeróbnych podmienok. Sérologický dôkaz je možný aglutináciou, *F.tularensis* sa vyskytuje v jednom antigénnom sérotype, ktorý môže skrížene reagovať s protilátkami proti brucelám. Titer nad 160 je suspektný. Laboratórna diagnostika je extrémne riziková. Baktéria je citlivá na streptomycín, tetracyklín, gentamycín, chloramfenikol, produkuje betalaktamázy.

Kazuistika

63-ročný muž prišiel do nemocnice s bolestivým opuchom na palci, udával, že pred piatimi dňami ho pohryzla mačka. Bol mu predpísaný penicilín, pacientov stav sa však zhoršoval, bolesť, opuch a erytém na palci sa zväčšovali, objavili sa systémové príznaky – horúčka, nevoľnosť, vracanie. Bola indikovaná chirurgická incízia rany, pri ktorej sa nepotvrdila prítomnosť abscesu. Kultivačné vyšetrenie materiálu z rany potvrdilo prítomnosť koaguláza negatívnych stafylokokov. Bola indikovaná intravenózna liečba penicilínom, pacientov stav sa stále zhoršoval – u pacienta sa vyvinula axilárna lymfadenopatia, mal príznaky pľúcnej infekcie. RTG vyšetrenie odhalilo infiltráty v dolnej a strednej časti pravého pľúcneho laloka. Antibiotická liečba bola zmenená na klindamycín a gentamycín, postupne sa začala znižovať horúčka a celkový stav sa začal zlepšovať. Predĺžená kultivácia vzorky odobratej z pôvodnej rany potvrdila prítomnosť slabo sa farbiacich gramnegatívnych kokobacilov, ktoré boli v národnom referenčnom centre identifikované ako *F. tularensis*.

Aká je patogenéza tularémie?

Aké formy tularémie poznáte?

Aké sú možnosti mikrobiologickej diagnostiky tularémie?

Pasteurelly

Rod: *Pasteurella*

druh: *multocida*
canis

Charakteristika

Pasteurelly sú gramnegatívne, slabo sa farbiace paličky. Nachádzajú sa ako súčasť normálnej mikroflóry v orofaryngu zdravých zvierat. Medzi najčastejšie izolované ľudské patogény patrí *Pasteurella multocida* a *Pasteurella canis*.

Tabuľka 23. Pasteurely – prehľad ochorení.

Species	Ochorenie
<i>P. multocida</i>	- infekcia rán po pohryzení - chronické pľúcne ochorenia - bakterémia - meningitída
<i>P. canis</i>	- infekcia rán po pohryzení
<i>P. bettyae</i>	- oportúnne infekcie - abscesy - urogenitálne infekcie - bakterémia - infekcia rán po pohryzení
<i>P. dagmatis</i> , <i>P. stomatis</i>	- infekcia rán po pohryzení

Patogénny potenciál a imunita

Hlavným faktorom virulencie je polysacharidové puzdro obsahujúce kyselinu hyaluronovú.

Ochorenia

Ochorenia u ľudí vznikajú najmä po pohryzení alebo po poškrabaní zvierat'om. Infekcia sa prejavuje ako:

- lokalizovaná celulitída a lymfadenitída po pohryzení alebo po poškrabaní zvierat'om
- exacerbácia chronického respiračného ochorenia u pacientov s pľúcnou dysfunkciou (pravdepodobne po aspirácii infikovaného sekrétu z orofaryngu)
- systémová infekcia u imunikompromitovaných pacientov

Laboratórna diagnostika a liečba

Pasteurely dobre rastú na čokoládovom alebo krvnom agare vo forme maslovitých, charakteristicky zápachajúcich kolónií (produkcia indolu). V liečbe sa osvedčili penicilíny, cefalosporíny s rozšíreným spektrom účinku, tetracyklíny alebo chinolóny.

Kazuistika

58-ročný muž bol hospitalizovaný s nálezom erytematóznych, červeno-purpurových škvŕn na koži ľavej ruky. V anamnéze boli údaje o tom, že pacient má chronickú renálnu insuficienciu, artritídu a Cushingov syndróm liečený steroidmi. Dva dni po prijatí do nemocnice sa na ľavej ruky objavili pľuzgiere, boli prítomné na celej končatine, rozšírili sa až na ľavé lýtko a pravú nohu. Pacient mal príznaky systémového šoku a krvácal z gastrointestinálneho traktu. Hemokultivačné vyšetrenie krvi bolo pozitívne s nálezom *P. multocida*. Aj napriek intenzívnej antibiotickej terapii a chirurgickej liečbe sa lézie rýchlo šírili. Rozvinula sa nekrotizujúca fasciitída a pacient napokon zomrel.

Ktoré faktory mohli u tohto pacienta zapríčiniť fatálny priebeh ochorenia?

Ako sa pacient mohol nakaziť?

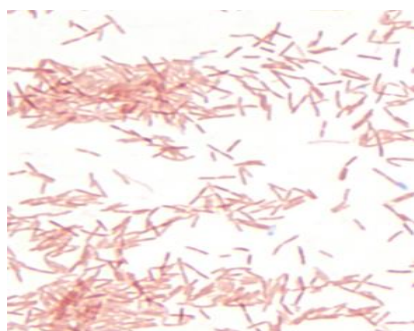
Aká je mikrobiologická diagnostika infekcií vyvolaných pasteurelami?

Legionely

Rod: *Legionella*
druh: *pneumophila*

Charakteristika

Legionely boli identifikované v roku 1976 ako pôvodcovia ťažkej pneumónie účastníkov stretnutia legionárov vo Philadelphii. Tieto baktérie žijú ako vodné saprofyty, u ľudí vyvolávajú najmä infekcie dýchacieho systému. Sú gramnegatívne, slabo sa farbiace, kokovité alebo pleiomorfne, pohyblivé paličky, ktoré produkujú katalázu. Kultivačne sú veľmi náročné. Produkujú fluoreskujúci žltý pigment. Legionely sú schopné pri dlhodobejšej expozícii vyvolať závažné infekcie predovšetkým u imunokompromitovaných pacientov alebo u ľudí s poškodením pľúc.



Obr. 120. *L. pneumophila* – farbenie podľa Grama.

<https://www.idimages.org/images/organismdetail/?imageid=1670&altimageid=57>

Patogénny potenciál a imunita

Bunková stena obsahuje kyselinu diaminopimelovú a veľmi málo peptidoglykán. Lipopolysacharid pravdepodobne neobsahuje endotoxínovú súčasť – lipid A. Niektoré druhy produkujú hemolyzíny a exotoxíny enzýmovej povahy (fosfatáza, lipáza, nukleáza). *Legionella pneumophila* je fakultatívne intracelulárny parazit prežívajúci a množiaci sa voľne v prírode (amébovité formy) a v makrofágoch, monocytoch a v alveolárnych epitelových bunkách infikovaných osôb. Je schopná zabrániť vytvoreniu a fúzii fagolizozómov. Stimuluje bunkami sprostredkovanú imunitnú odpoveď. Produkcia interferónu je kľúčová pre elimináciu baktérií.

Ochorenia

Legionelóza môže mať asymptomatický priebeh, symptomatické ochorenia primárne postihujú pľúca a môžu mať dve formy:

- Pontiacka horúčka – horúčka, únava, myalgie, bolesti hlavy, obvykle nie je prítomná klinická manifestácia pneumónie
- Legionárska choroba – horúčka, bolesť hlavy, suchý, neproduktívny kašeľ, multiorgánové postihnutie (gastrointestinálny trakt, CNS, pečeň, obličky). Ochorenie sa primárne manifestuje ako pneumónia s mikroabscesmi.

Tabuľka 24. Legionela – charakteristika.

	<i>Legionella</i> spp.
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none"> - gramnegatívna palička - pleiomorfná, kultivačne náročná - prežíva v makrofágoch
Ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - Legionárska choroba: pneumónia s mikroabscesmi, multiorgánové postihnutie - Pontiacka horúčka: horúčka, bolesť hlavy, suchý neproduktívny kašeľ, obvykle samolimitujúca - nozokomiálne infekcie - infekcie u imunokompromitovaných
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none"> - kultivácia na špeciálnych médiách, predĺžená na 3-5 dní, prostredie s 3% - 5% CO₂ - dôkaz antigénu vo vzorke - testy na dôkaz nukleovej kyseliny
Prevenia	- zabrániť kontaminácii vody (chlór, var, ionizácia)
Liečba	- makrolidy, - fluorochinolóny

Laboratórna diagnostika a liečba

Vzhľadom na kultivačnú náročnosť a ťažký priebeh ochorenia sú vhodné rýchle diagnostické postupy. Vhodný je dôkaz antigénu zo spúta a moču, fluorescenčná mikroskopia spúta so značenými protilátkami proti legionelám. Na kultiváciu sa používajú komplexné média obsahujúce cystein, železo a antibiotiká proti sprievodnej mikroflóre. Kultivuje sa pri 35°C 3-5 dní v prostredí s 3% - 5% CO₂. Na rodovú identifikáciu sa používajú špeciálne chromogénne pôdy. Sérologický dôkaz ochorenia je možný pomocou komplementfixačnej reakcie, titre nad 256 sú suspektne, dlho pretrvávajú. Z novších metodík je možné použiť ELISA dôkaz IgM protilátok. Vzhľadom na kultivačnú náročnosť je stanovenie citlivosti zriedkavo úspešné. Legionely sú citlivé na erytromycín, rifampicín, azitromycín a fluorochinolóny. Sú rezistentné na betalaktámové antibiotiká.

Kazuistika

Úrad verejného zdravotníctva zaznamenal v roku 2003 úmrtie staršieho muža na Legionársku chorobu, o tri dni neskôr bolo hlásené úmrtie staršej ženy s tým istým ochorením. V rámci aktívneho sledovania boli zaznamenaní ďalší dvaja hospitalizovaní pacienti s pozitívnymi výsledkami testov na detekciu legionelového antigénu v moči. Ďalšie epidemiologické vyšetrenie odhalilo 28 osôb, ktoré mali v tom istom období pozitívne výsledky testov na legionelový antigén v moči, u štyroch sa potvrdila aj prítomnosť vysokých titrov špecifických protilátok v krvi, u dvoch boli pozitívne výsledky kultivácie na legionely.

Aké ochorenia vyvolávajú legionely?

Aké sú možnosti laboratórnej diagnostiky ochorení vyvolaných legionelami?

Ako sa liečia infekcie spôsobené legionelami?

Bartonely

Rod: *Bartonella*

Druh: *bacilliformis*
quintana
henselae

Charakteristika

Bartonely sú krátke aeróbne gramnegatívne paličky alebo kokobacily, ktoré kolonizujú rôzne živočíchy, na ľudí sa prenášajú buď priamym kontaktom, pohryzením a poškrábaním kolonizovaným zvierat'om, alebo prostredníctvom vektorov (blchy, vši).

Patogénny potenciál a imunita

Bartonella bacilliformis - baktérie vstupujú do krvi, kde sa množia a napádajú erytrocyty a bunky endotelu. Tento proces zvyšuje fragilitu postihnutých buniek, tie sú následne odstránené prostredníctvom buniek retikuleondotelového systému, vzniká anémia. *Bartonella henselae* vyvoláva chronické postihnutie lymfatických uzlín.

Ochorenia

Bartonella bacilliformis spôsobuje Carriónovu chorobu, ktorú charakterizujú závažné prejavy hemolytickej anémie a horúčka (Oroyská horúčka) a benígne nodulárne kožné efluorescencie (Verruga peruana). Ochorenie sa vyskytuje v horských oblastiach Peru, v Ekvádore a v Columbii.

Bartonella quintana vyvoláva zákopovú horúčku, pri ktorej je typický výskyt horúčky v 5-dňových intervaloch a bacilárnu angiomatózu.

Bartonella henselae je zodpovedná za chorobu z mačacieho poškrábania (cat-scratch disease). Ochorenie sa prejavuje ako postihnutie kože, regionálnych lymfatických uzlín, môže spôsobiť postihnutie pečene (peliosis hepatis) alebo sleziny (splenic peliosis). Infekcia je zvyčajne benígna, samolimitujúca.



Obr. 121. Choroba z mačacieho poškrábania.

<http://hardinmd.lib.uiowa.edu/dermnet/catscratch2.html>

Laboratórna diagnostika a liečba

Bartonely môžu byť identifikované mikroskopicky v preparátoch z lymfatických uzlín, kultivácia býva takmer vždy negatívna, u imunokompromitovaných pacientov s chronickou bakterémiou je možné *B. henselae* v krvi dokázať po 4-týždňovej kultivácii. Ochorenie sa definitívne potvrdí na základe klinických prejavov a sérologickým dôkazom.

Neliečená Oroyská horúčka má vysokú mortalitu, preto je potrebné infekciu liečiť chloramfenikolom v kombinácii s β -laktámovými antibiotikami, používa sa aj klaritromycín a rifampicín. Pre chorobu z mačacieho poškriabania je liekom voľby azitromycín.

Tabuľka 25. Bartonely – charakteristika, ochorenia.

Baktéria	Ochorenie	Charakteristika
<i>Bartonella bacilliformis</i>	Carriónova choroba	- horúčka, anémia (Oroyská horúčka) + kožné prejavy (Verruga peruana)
<i>Bartonella quintana</i>	Zákopová horúčka	- horúčka (5-dňový interval) - bolesti hlavy - únava - bolesti kostí
	Rekurentná horúčka s bakterémiou	- imunokompromitovaní - pacienti s HIV
	Bacilárna angiomatóza	- imunokompromitovaní - pacienti s HIV
<i>Bartonella henselae</i>	chorobu z mačacieho poškriabania	- postihnutie kože, lymfatických uzlín a pečene (peliosis hepatis) alebo sleziny (splenic peliosis).

Laboratórna diagnostika a liečba

Bartonely môžu byť identifikované mikroskopicky v preparátoch z lymfatických uzlín, kultivácia býva takmer vždy negatívna, u imunokompromitovaných pacientov s chronickou bakterémiou je možné *B. henselae* v krvi dokázať po 4-týždňovej kultivácii. Ochorenie sa definitívne potvrdí na základe klinických prejavov a sérologickým dôkazom.

Neliečená Oroyská horúčka má vysokú mortalitu, preto je potrebné infekciu liečiť chloramfenikolom v kombinácii s β -laktámovými antibiotikami, používa sa aj klaritromycín a rifampicín. Pre chorobu z mačacieho poškriabania je liekom voľby azitromycín.

Cardiobacterium a Streptobacillus

Cardiobacterium hominis sú nepohyblivé, fakultatívne anaeróbne gramnegatívne pleiomorfne paličky, ktoré sa môžu bežne nachádzať v horných dýchacích cestách človeka. Spolu s *C. valvarum* môže u ľudí so srdcovými ochoreniami vyvolať endokarditídu. Baktérie sú citlivé na rôzne antibiotiká, obvykle sa používa penicilín alebo ampicilín, ktoré sa podávajú 2 – 6 týždňov.

Streptobacillus moniliformis je dlhá, tenká zle sa farbiaca gramnegatívna palička, ktorá kolonizuje dýchacie cesty potkanov a iných drobných hlodavcov. Človek sa nakazí po pohryzení (horúčka po uhryznutí potkanom), alebo zriedkavejšie po požití kontaminovanej potravy a vody (Haverhillská horúčka). Ochorenia sú charakterizované nepravidelne sa objavujúcou horúčkou, bolesťami hlavy a migrujúcimi bolesťami viacerých kĺbov (polyartralgia) a hemoragickými vyrážkami. Na liečbu sa používa penicilín a tetracyklín.

Bordetely

Rod: *Bordetella*

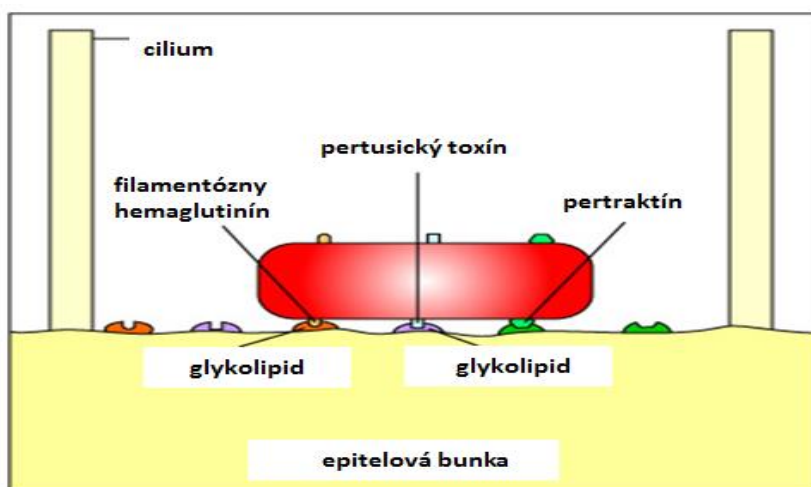
druh: *pertussis*

parapertussis

bronchiseptica

Charakteristika

Predstavitelia rodu *Bordetella* sú striktne aeróbne, gramnegatívne, nepohyblivé, ťažko sa farbiace nesporulujúce kokobacily, ktoré majú podobné rastové, biochemické a antigénne vlastnosti. Odlišujú sa virulenciou. Stavba bunkovej steny bordetel je rovnaká, ako u ostatných gramnegatívnych baktérii. Bordetely nie sú nutrične náročné, ale niektoré substancie sú pre ne toxické (napr. masné kyseliny prítomné v bavlně). Oxidujú aminokyseliny, nefermentujú uhľohydráty. *B. pertussis* vyvoláva čierny kašeľ – pertussis, *B. parapertussis* podobné, miernejšie prebiehajúce ochorenie. Respiračné ochorenie zvierat prenosné na človeka vyvoláva *B. bronchiseptica*.



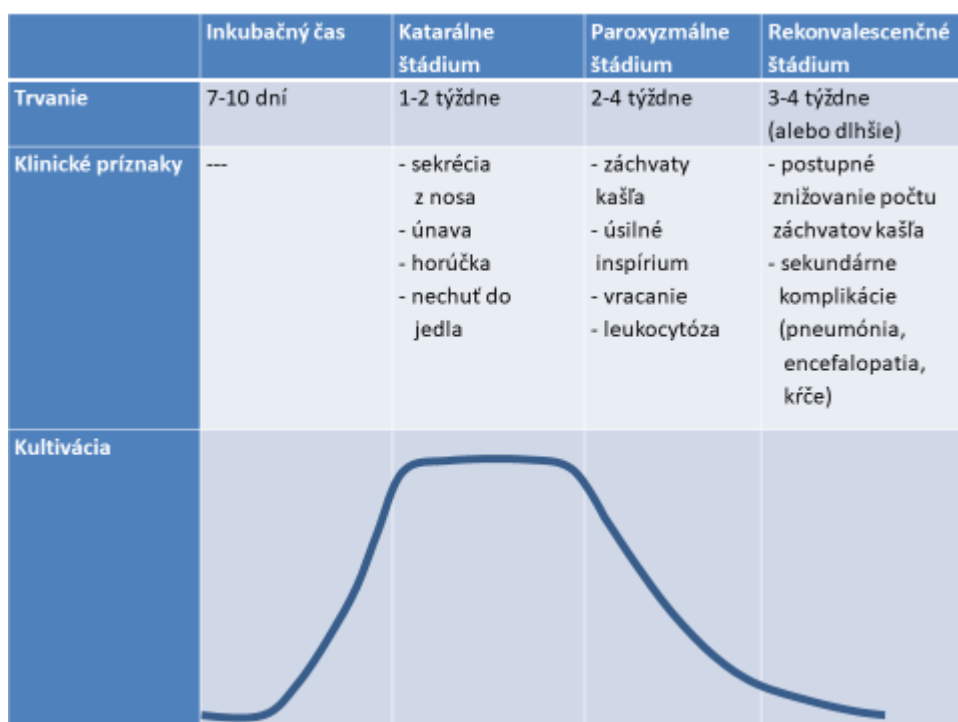
Obr. 122. *B. pertussis* – nástroje patogenity a virulencie.

BIOL 230 Lecture Guide - Bordetella Adhering to a Ciliated ...

Patogénny potenciál a imunita

Najvirulentnejším predstaviteľom je *Bordetella pertussis*, ktorá vyvoláva ochorenie predovšetkým prostredníctvom toxínu. Bordetely obsahujú v bunkovej stene lipopolysacharid s biologickými vlastnosťami endotoxínu. Fimbrie sú zodpovedné za prichytenie baktérií na riasinkový epitel v dýchacích cestách. Okrem toho produkuje viacero exotoxínov, ktoré sú nástrojom patogenity a virulencie:

- filamentózne hemaglutinín – spôsobuje prichytenie baktérie na sliznicu a vyvoláva tvorbu protektívnych protilátok
- tracheálny cytotoxín – spôsobuje ciliostázu a odlupovanie riasinkového epitelu
- dermonekrotický toxín – termolabilná substancia spôsobujúca tkanivové poškodenie
- adenylcykláza – toxín zvyšujúci hladiny cAMP a inhibujúci funkciu efektorových imunitných buniek
- pertussický toxín – AB toxín, 120 kD proteín zodpovedný za príznaky intoxikácie. Je to ADP-ribosyl transferáza, ktorá bráni prenosu signálu z povrchových bunkových receptorov a sprostredkuje väzbu na riasinkový respiračný epitel. Vyvoláva tvorbu protektívnych protilátok.



Obr.123. Klinická manifestácia pertussis.

Ochorenia

Bordetella pertussis je pôvodcom **pertussis** - čierneho kašľa. Najzávažnejší priebeh má ochorenie u neočkovaných pacientov, najmä u malých detí. Nemá žiadny prírodný rezervoár, je prenosná len z človeka na človeka kvapôčkami infekčného aerosólu. Inkubačný čas je 7 - 10 dní. Ochorenie je charakterizované katarálnym, paroxysmálnym a rekonvalescentným štádiom.

Katarálne štádium sprevádzajú príznaky nachladnutia so zvýšenou teplotou, nádchou, únavou a nechutenstvom. Po 1 - 2 týždňoch nastupuje **paroxysmálne štádium**, ktoré je charakterizované prudkými záchvatmi kašľa s vylučovaním hlienu zakončeného

úsilným, sípavým nádychom a často vracaním. 40 - 50 záchvatov denne vedie k značnému vyčerpaniu pacienta. **Rekonvalescentné štádium** nastupuje po 2 - 4 týždňoch. Záchvaty kašľa ustupujú, ale môžu sa objaviť sekundárne komplikácie (infekcie pyogénnymi kokmi, neurologické komplikácie). Rekonvalescentné štádium trvá asi 1 mesiac, niekedy aj dlhšie.

Priebeh ochorenia vyvolaného *B. parapertussis* je ľahší a príznaky trvajú kratšie.

Laboratórna diagnostika a liečba

Bordetely sú veľmi citlivé na vysušenie. Mastné kyseliny prítomné v bavlnie odberových súprav sú pre ňu toxické. Na transport vzoriek je nutné použiť transportné médiá (v minulosti sa používali kašľacie platne, pri rozočkovaní sa používala kvapka penicilínu na potlačenie rastu sprievodnej mikroflóry). Na kultiváciu sa používa špeciálna kultivačná pôda (Bordette-Gengou). Vyžaduje predĺžený kultivačný čas (až 7 dní), vo vlhkej komôrke. V nepriamej diagnostike je možné použiť aglutináciu pacientovho séra s antigénom *B. pertussis* a *B. parapertussis*. Odoberajú sa dve vzorky séra v 14-dňovom intervale. Za pozitívny nález protilátok sa považuje sérokonverzia (z negativity na pozitivitu), prípadne štvornásobný vzostup (pokles) titra protilátok v druhej vzorke. Dôkaz špecifických IgA protilátok je znakom akútneho ochorenia. IgG protilátky sú protektívne a pretrvávajúce (po ochorení alebo po očkovaní). Metóda PCR na detekciu DNA *B. pertussis* a *B. parapertussis* umožňuje včasnú diagnostiku čierneho kašľa. Bordetely sú citlivé na makrolidové antibiotiká, ktoré sa používajú na ich eradikáciu. Profylakticky sa podáva azitromycín. Na očkovanie sa používa vakcína obsahujúca inaktivovaný pertussický toxín, filamentózny hemagglutínin a pertraktín.

Kazuistika

5-ročné dieťa priviedli rodičia na kliniku pre pretrvávajúci silný a neustupujúci kašeľ. V priebehu predchádzajúcich 10 dní malo dieťa pretrvávajúcu nádchu, ktorá sa postupne zhoršovala. Kašeľ sa objavil deň pred návštevou lekára, bol intenzívny, po záchvatoch kašľa sa objavilo aj vracanie. Dieťa bolo vysilené, vyšetrením krvného obrazu sa zistila leukocytóza s predominciou lymfocytov. Vyšetrujúci lekár vyslovil podozrenie na pertussis.

Akými laboratórnymi testami je možné potvrdiť diagnózu, ktorú stanovil lekár pri vyšetrení?

Aké faktory virulencie produkuje *B. pertussis*?

Aká je obvyklá progresia, prognóza a prevencia pre pertussis?

Hemofily

Rod: *Haemophilus*
druh: *influenzae*
parainfluenzae
aegyptius
ducreyi

Charakteristika

Hemofily sú spolu s rodmi *Pasteurella*, *Aggregatibacter*, *Actinobacillus* a *Pasteurella* zaradené do čeľade Pasteurellaceae. Baktérie z rodu *Haemophilus* sú bežne prítomné na slizniciach horných dýchacích ciest, môžu byť však izolované aj z čreva alebo z vagíny. Sú to gramnegatívne, drobné, pleiomorfné, kultivačne náročné paličky. *Haemophilus influenzae* je najčastejším vyvolávateľom ochorení, najmä u detí. *Haemophilus ducreyi* vyvoláva sexuálne prenosné ochorenie ulcus molle, *Haemophilus aegyptius* je častou príčinou akútnej purulentnej konjunktivitídy. *Haemophilus parainfluenzae* je prítomný na sliznici ústnej dutiny, zriedkavo vyvoláva oportunistické infekcie.

Tabuľka 26. *H. influenzae* – charakteristika.

	<i>H. influenzae</i>
Charakteristika	<ul style="list-style-type: none">- gramnegatívne pleiomorfné paličky- kultivačne náročné- vyžadujú prítomnosť rastových faktorov X a V- fimbrie: zvyšujú schopnosť adherencie
Ochorenia	Neopúzdrené kmene <ul style="list-style-type: none">- lokálne infekcie: otitis media, faryngitída, sínusitída, bronchitída Opúzdrené kmene <ul style="list-style-type: none">- invázne ochorenia: meningitída, artritída, primárna pneumónia, celulitída, epiglotitída
Diagnostika	<ul style="list-style-type: none">- mikroskopia- kultivácia: na krvnom agare so stafylokokovou čiarou čokoládový agar- odlíšenie pomocou rastových faktorov X, V- určenie protilátok proti Hib (ELISA, radiálna imunodifúzia)
Prevenia	<ul style="list-style-type: none">- očkovanie konjugovanou vakcínou
Liečba	<ul style="list-style-type: none">- betalaktámové antibiotiká (amoxicilín) v kombinácii s inhibítorom β-laktamázy- cefalosporíny II. a III. generácie- azitromycín- klaritromycín- fluorchinolóny (nie u detí)

Patogénny potenciál a imunita

Baktérie z rodu *Haemophilus*, predovšetkým neopuzdrené kmene *H.influenzae* a *H. parainfluenzae*, sú prítomné na sliznici horných dýchacích ciest, kde sa môžu šíriť a

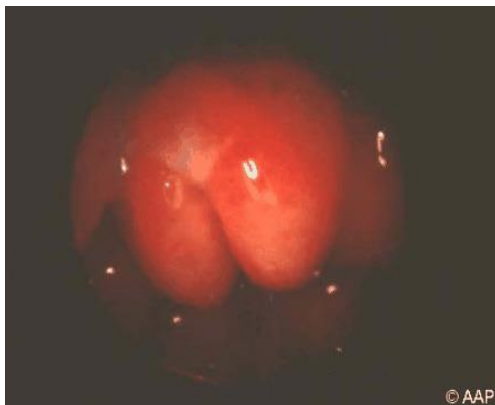
vyvolať lokálne infekcie (otitis media, faryngitída, sínusitída, bronchitída). Opuzdrené kmene *H. influenzae* (najčastejšie sérotyp b, Hib) sú vyvolávateľmi inváznych ochorení najmä u neočkovaných detí (meningitída, artritída, primárna pneumónia, celulitída, epiglottitída). Infekcie vyvolané opuzdrenými kmeňmi sa vyskytujú predovšetkým vo vekovej skupine detí od 6. mesiaca do 2. roku života.

Hlavným nástrojom patogenity u opuzdrených kmeňov je polysacharidové puzdro (podľa štruktúry sa rozlišujú typy a-f), ktoré má antifagocytárne vlastnosti. Je to tzv. T-nezávislý antigén, ktorý stimuluje B-lymfocyty k tvorbe protilátok priamo, bez účasti antigén prezentujúcich buniek a T-lymfocytov. Imunitná odpoveď je protilátková (IgM protilátky), bez vytvorenia pamäťových buniek, IgG protektívne protilátky sa tvoria až u detí starších ako dva roky a protektivita je podmienená aj skrížene reagujúcimi protilátkami, ktoré majú opsonizačný a komplement aktivujúci účinok. Komponenty bunkovej steny *H. influenzae* poškadzujú epitel respiračného traktu, baktérie prechádzajú cez epitelové a endotelové bunky a môžu preniknúť až do krvného obehu. Ak nie sú prítomné špecifické opsonizujúce protilátky, môže sa vyvinúť závažná bakterémia s následnou disemináciou baktérií do CNS alebo do iných miest. *H. influenzae* (opuzdrené aj neopuzdrené kmene) produkuje IgA1 proteázu, ktorá poškodzuje imunitu a uľahčuje kolonizáciu slizníc. Fimbrie zvyšujú schopnosť adherencie hemofilov.

Ochorenia

H. influenzae

Meningitída postihuje najmä neimúnnu detskú populáciu (je to najčastejšia baktériová meningitída u detí od 3. mesiaca do 2. roku), baktérie sa krvnou cestou šíria z nazofaryngu do centrálného nervového systému. Po miernej infekcii dýchacích ciest sa v priebehu 1-3 dní vyvíjajú charakteristické príznaky meningitídy. Infekcia sa šíri interhumánne.



Obr. 124. Hemofilová epiglottitída – opuch a erytém na epiglottis.

<http://aapredbook.aappublications.org/site/week/iotw061206.xhtml>

Epiglottitída je život ohrozujúca infekcia, charakterizovaná zápalom a opuchom supraglotických tkanív, faryngitídou, problémami s dýchaním, môže dôjsť k závažnej obštrukcii dýchacích ciest a k smrti pacienta. Vyskytuje sa najmä u detí medzi 2. – 4. rokom života. Hemofilová akútna epiglottitída je ochorenie, pri ktorom sa neodporúča odber materiálu z dýchacích ciest na zistenie pôvodcu infekcie.

Neopuzdrené kmene *H. influenzae* vyvolávajú oportúnne infekcie horných a dolných dýchacích ciest.

H. ducreyi

H. ducreyi sa prenáša priamym, najčastejšie sexuálnym, kontaktom s léziami a s exudátom s postihnutých lymfatických uzlín. Vyvoláva ochorenie **ulcus molle (mäkký vred, chancroid)**. Je to sexuálne prenosné ochorenie, ktoré sa prejavuje vznikom mäkkých papúl v oblasti genitálu alebo rekta. Lézie postupne ulcerujú, sú bolestivé, dochádza k postihnutiu regionálnych lymfatických uzlín. V rámci diferenciálnej diagnostiky je potrebné túto infekciu odlišiť od syfilisu a herpes simplex.



Obr. 125. Ulcus molle.

<https://online.epocrates.com/u/2911932/Chancroid/Summary/Highlights>

Laboratórna diagnostika a liečba

V mikroskopických preparátoch z klinických vzoriek sú viditeľné gramnegatívne pleiomorfné paličky (kokobacilárne útvary, alebo dlhé vlákna). Hemofily sú nutrične náročné, v kultivačných pôdach vyžadujú prítomnosť rastových faktorov (**hemín-faktor X, nikotínamidadenín-dinukleotid-faktor V**). Obidva rastové faktory sú prítomné v kultivačných médiách obsahujúcich krv, krvný agar je však potrebné zahriať, aby došlo k deštrukcii inhibítorov faktoru V. Preto sa na kultivačný dôkaz hemofilov používa čokoládový agar. Hemofily rastú aj na krvnom agare okolo kolónií *S. aureus* – **fenomén satelitizmu** (stafylokoky lyzujú erytrocyty v krvnom agare a zabezpečujú tak prítomnosť hemínu a zároveň produkujú NAD). Potreba jednotlivých rastových faktorov sa používa na vzájomné odlišenie hemofilov. Na liečbu hemofilových infekcií sa používajú chránené betalaktámové antibiotiká (amoxicilin-klavulanát, ampicilín-sulbaktam), cefalosporíny II. generácie alebo makrolidové antibiotiká (okrem erytromycínu) podľa výsledkov testovania citlivosti. Očkovanie proti *Haemophilus influenzae* je u nás súčasťou pravidelného očkovania detí, vakcína obsahuje polysacharid puzdra naviazaný na proteínový nosič (difterický toxoid, tetanický toxoid alebo proteín vonkajšej membrány *N. meningitidis*).

Kazuistika

78-ročný muž žijúci v opatrovateľskom ústave sa po prebudení sťažoval na silnú bolesť hlavy a na stuhnutú šíju, mal vysokú horúčku. Bol prijatý do nemocnice, kde mu odobrali likvor. Vyšetrenie likvoru odhalilo prítomnosť vysokého množstva polymorfonukleárných leukocytov, koncentrácia bielkovín bola 75 mg/dl, koncentrácia glukózy 20 mg/dl. Farbením podľa Grama sa zistila prítomnosť malých gramnegatívnych paličiek, kultivačné vyšetrenie krvi aj likvoru potvrdilo prítomnosť *H. influenzae*.

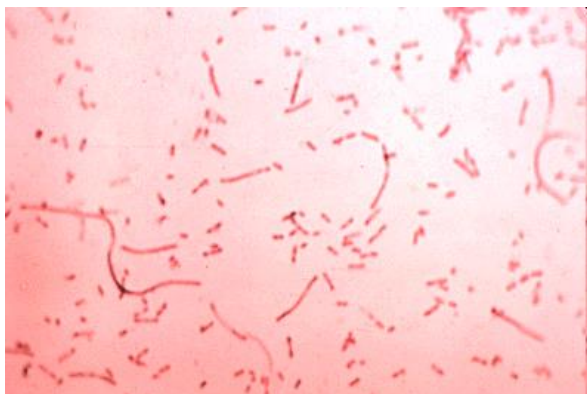
Aká je epidemiológia meningitíd vyvolaných *H. influenzae*?
Aké sú možnosti kultivácie na identifikáciu hemofilov?
Aké ďalšie ochorenia vyvoláva *H. influenzae*?

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopia *H. influenzae*

Pripravte fixovaný preparát z kultúry *H. influenzae*, zafarbte podľa Grama, mikroskopujte.

Hemofily sú gramnegatívne, drobné, pleiomorfné, kultivačne náročné paličky.

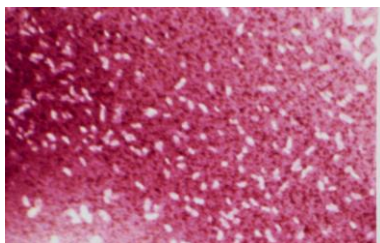


Obr. 126. *H. influenzae* – farbenie podľa Grama.

<http://textbookofbacteriology.net/haemophilus.html>

Pripravte fixovaný preparát z kultúry *H. influenzae*, zafarbte Burriho tušovou metódou, mikroskopujte.

Burriho tušová metóda sa používa na dôkaz prítomnosti baktériových puzdier.



Obr. 127. *H. influenzae* – Burriho tušová metóda.

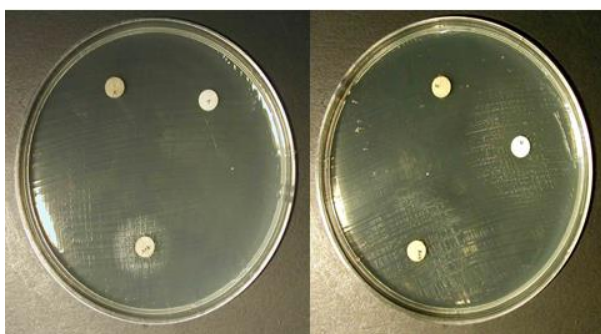
B. Kultivácia hemofilov

Potreba rastových faktorov pre kultiváciu hemofilov.

H. influenzae vyžaduje pre svoj rast prítomnosť oboch rastových faktorov - hemínu (faktor X) a NAD (faktor V). Závislosť na X alebo V alebo oboch faktoroch slúži k druhej identifikácii hemofilov.

H. influenzae

H. parainfluenzae



Obr. 128. Rastové faktory – identifikácia hemofilov.

www.medmicro.info

***H. influenzae* na čokoládovom agare.**

Čokoládový agar sa používa najmä na kultiváciu patogénnych neisserií a hemofilov. Čokoládový agar je kultivačné médium, ktoré sa vyrába zmiešaním horúceho (80°C) agaru s krvou. Pri tepelnej lýze sa z erytrocytov uvoľňuje množstvo rastových faktorov (NAD, hemín). Hemoglobín obsiahnutý v pôde je dôležitý pre rast uvedených baktérií (termostabilný faktor X).

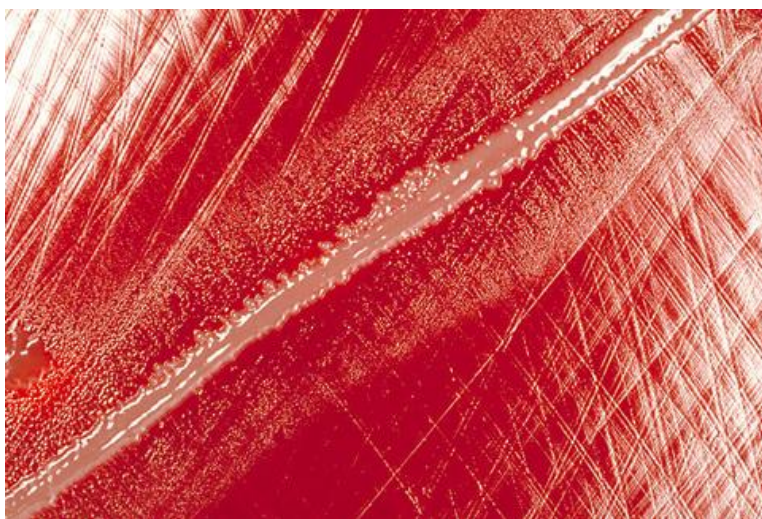


Obr. 129. *H. influenzae* – kolónie na čokoládovom agare

<http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt09-id-characterization-hi.html>

***H. influenzae* so *S. aureus* na krvnom agare – fenomén satelitizmu.**

Na kultiváciu hemofilov z klinických vzoriek sa používa aj krvný agar. Vyšetrovaná vzorka sa naočkuje na krvný agar a súčasne sa naočkuje aj laboratórny kmeň *S. aureus*. *Staphylococcus aureus* uvoľňuje NAD (V faktor), hemofily rastú v okolí stafylokokovej čiary vo forme veľmi drobných, priesvitných kolónií.

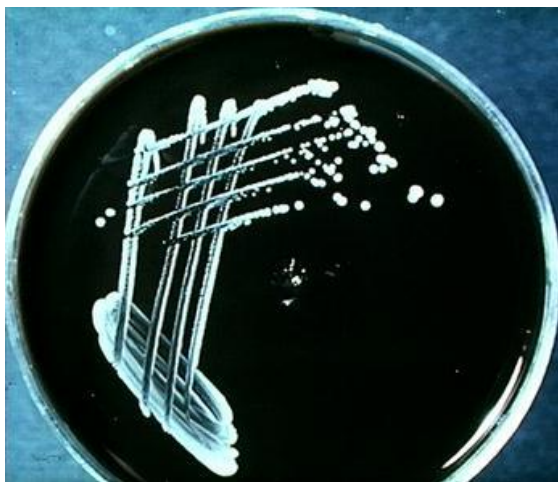


Obr. 130. Fenomén satelitizmu.

<http://infectionnet.org/notes/microorganisms/bacterial-pathogens-of-the-respiratory-tract-and-cns/attachment/satellite2/>

C. Kultivácia *B. pertussis*

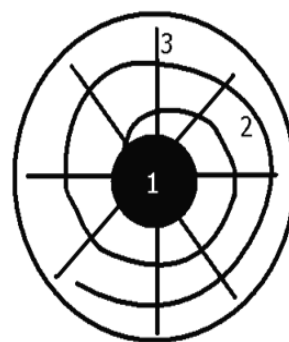
B. pertussis sa kultivuje na obohatených pôdach. Používa sa Bordette-Gengou pôda, ktorá obsahuje zemiakový extrakt, glycerín, baraniu krv a penicilín G (0,5 mg/l). Kolónie vyrastajú za 36 - 72 hodín, sú drobné, priesvitné, perleťovo lesklé



B. pertussis - očkovanie na Bordette-Gengou agar

Tento zvláštny spôsob sa používa na zvýšenie záchytu bordetel.

- 1) Naočkovanie stredového poľa do kvapky penicilínu
- 2) Špirála smerom k okraju
- 3) Radiálne lúče



Obr. 131. *B. pertussis* – kultivácia na Bordette-Gengou agare.

<http://medinfo.ufl.edu/year2/mmid/bms5300/images/d7053.jpg>

OTÁZKY

1. Aká je patogenéza, epidemiológia a klinická manifestácia brucelózy?
2. Ako sa lieči brucelóza?
3. Aká je epidemiológia tularémie?
4. Ako prebieha tularémia?
5. Aké opatrenia je potrebné dodržiavať laboratórnej diagnostike tularémie?
6. Čo je legionárska choroba?
7. Ako sa liečia infekcie vyvolané legionelami?

8. Aké infekcie vyvolávajú pasteurely?
9. Aké ochorenia vyvolávajú bordetely?
10. Ktoré nástroje patogenity a virulencie sa uplatňujú pri vzniku pertussis?
11. Akým spôsobom sa odoberá material pri podozrení na pertussis?
12. Opíšte kultiváciu *B. pertussis*.
13. Aká je liečba a prevencia pertussis?
14. Charakterizujte hemofily.
15. Ktoré infekcie vyvoláva *H. influenzae* typ b:
16. Opíšte kultiváciu hemofilov.
17. Ako je možné odlišiť jednotlivé druhy hemofilov?
18. Charakterizujte rastové faktory potrebné pre hemofily.
19. Čo je fenomén satelitizmu?
20. Aká je liečba a prevencia hemofilových infekcií?

1.12 Spirochéty

Charakteristika

Baktérie, ktoré patria do radu *Spirochaetales* majú spoločné morfológické vlastnosti. Spirochéty sú gramnegatívne špirálovité baktérie, ich telo je tvorené protoplazmatickým valcom a obalmi, bičíky sa nachádzajú v periplazmatickom priestore. Do tejto skupiny baktérií patria tri rody, ktoré sú zodpovedné za infekcie u ľudí: rod *Treponema*, rod *Borrelia* a rod *Leptospira*. Treponémy sú tenké s rozmermi 0,1 x 20 µm, majú tri periplazmatické bičíky a nerastú na nebunkových kultivačných médiách. Borélie sú väčšie ako ostatné spirochéty (0,5 x 30 µm). Leptospiry sú na oboch koncoch hákovito zahnuté, majú dva periplazmatické bičíky.

Borrelia



Leptospira



Treponema



Obr 132. Spirochéty – charakteristický tvar.

Treponémy

T. pallidum subsp. *pallidum*

T. pallidum subsp. *endemicum*

T. pallidum subsp. *pertenue*

T. carateum

T. pallidum subsp. *pallidum* vyvoláva sexuálne prenosné ochorenie syfilis, *T. pallidum* subsp. *endemicum* vyvoláva bejel (endemický syfilis), *T. pallidum* subsp. *pertenue* vyvoláva ochorenie yaws a *T. carateum* je zodpovedná za ochorenie pinta.

Patogénny potenciál a imunita

Treponema pallidum preniká do organizmu kožou alebo sliznicou a extracelulárne (mimo buniek) sa pomnoží. Rýchlo sa dostáva do lymfatických ciest, šíri sa krvnou cestou, poškodzuje vnútornú vrstvu ciev a aj ich funkciu. Spirochéty sa môžu usadiť v ktoromkoľvek orgáne alebo tkanive v tele. Lipoproteíny cytoplazmatickej membrány a hemolýziny produkované *T. pallidum* sa považujú za nástroje virulencie, nie je však jasný presný vzťah k poškodeniu hostiteľských tkanív. Baktérie odolávajú fagocytóze a adherujú na fibronektín hostiteľa, predpokladá sa, že produkcia hyaluronidázy napomáha perivaskulárnej infiltrácii. Bunková stena obsahuje veľké množstvo lipidov (kardiolipín, cholesterol), ktoré nie sú bežné u väčšiny baktérií. Antigénna štruktúra je komplexná, ale ťažko definovateľná, vzhľadom na nemožnosť kultivovať ich. Reakcia patogéna s imunitnými mechanizmami hostiteľa vedie k tvorbe imunokomplexov, následnej imunosupresii a klinickým príznakom, ktorých hlavným patogénnym podkladom je perivaskulárne postihnutie arteriol a kapilár. Únik pred imunitným systémom vďaka intracelulárnemu parazitizmu a podobnosti povrchových antigénnych štruktúr s antigénmi vlastného tela spôsobuje chronický priebeh treponematózy a nedostatočnú imunitnú reakciu. Imunita sa rozvinie u neliečených pacientov, ale vzniká pomaly a je príčinou imunopatologických následkov infekcie. Je kombináciou humorálnych a bunkových mechanizmov. *Treponema pallidum* má nízku odolnosť a je citlivá na vplyvy vonkajšieho prostredia, ničia ju aj zriedené roztoky bežných dezinfekčných prostriedkov. Je infekčná len pre človeka, ktorý je jej jediným hostiteľom v prírode.



Obr. 133. *T. pallidum* – mikroskopia v tmavom poli.

http://www.microbeworld.org/index.php?option=com_jlibrary&view=article&id=7734&Itemid=54

Ochorenia

Syfilis

Syfilis patrí medzi pohlavne prenosné choroby. Získaný syfilis sa vyvíja v troch klinických štádiách a pokiaľ nie je liečený, môže vážne postihnúť všetky orgány v tele. Najčastejšie napáda srdce, mozog, miechu a kožu. V neskorších štádiách môže viesť k duševným poruchám a k smrti. Priebeh získaného syfilisu môžeme rozdeliť do nasledujúcich štádií:

Primárny syfilis – v tomto štádiu syfilisu vzniká na mieste vniknutia pôvodcu do organizmu nebolestivý, hladký, tvrdý vred, červenofialovej farby (ulcus durum). Najčastejšie býva lokalizovaný na penise, vonkajších genitáliách, vo vagíne, objavuje sa zdurené lymfatických uzlín.

Sekundárny syfilis – obvykle po uplynutí 9 týždňov. Treponémy sa krvnou a lymfatickou cestou dostávajú do celého tela, lymfatické uzliny sú zdurené a objavujú sa kožné vyrážky, ktoré môžu pokrývať celé telo, alebo sa môžu nachádzať napríklad len na dlaniach, na chodidlách, na hrudníku alebo bruchu. V okolí genitálií sa obvykle tvoria veľké sivobiele škvrny, ktoré sa spájajú do otvorených ložísk a v tomto štádiu sú vysoko infekčné. Zmeny sa objavujú aj na sliznici pošvy a krčka maternice.

Latentné štádium – pri prvom i druhom štádiu syfilisu môžu príznaky ustúpiť a v latentnej podobe môžu baktérie prežívať aj niekoľko rokov. V tomto štádiu infikovaná tehotná žena môže infekciu stále preniesť na plod (vrodený syfilis).

Terciárny syfilis – v tomto štádiu sa u infikovaných ľudí objavujú vážne kardiovaskulárne poškodenia a zmeny na kostre a kĺboch. Postihnutý môže byť aj mozog a centrálna nervová sústava, čo neskôr vedie k neurologickému zlyhaniu až k demencii - **neurosyfilis**. Toto štádium je najmenej infekčné, vzniká 5 – 20 rokov po prvom štádiu.

Vrodený syfilis je dôsledkom neliečeného alebo nedostatočne liečeného syfilisu matky. Keďže sa infekcia z matky na dieťa počas tehotenstva prenáša krvou cez placentu, chýbajú príznaky primárneho štádia. Pôvodca syfilisu sa nachádza vo všetkých orgánoch plodu a tehotenstvo môže skončiť potratom. Prejavy včasného vrodeného syfilisu zodpovedajú sekundárnemu štádiu - kožné vyrážky, zväčšená pečeň. Potom nastáva fáza latencie (infekcia bez viditeľných prejavov). Po viac ako dvoch rokoch infekcie hovoríme o neskorom vrodenom syfilise, pri ktorom sa objavujú ťažké poškodenia orgánov. Pre kongenitálny syfilis je charakteristická Hutchinsonova triáda (keratitída, vestibulárna hluchota a súdkovité rezáky), perforácie podnebia, deformácie nosa.

Bejel (endemický syfilis), yaws a pinta

Bejel, yaws a pinta označujeme aj ako nevenerické trepanomatózy, ktoré sa u nás nevyskytujú. Bejel je ochorenie hlavne chudobnej populácie v Afrike, Ázii a Austrálii. Yaws sa vyskytuje v strednej Afrike, juhovýchodnej Ázii a Južnej Amerike, pinta v Strednej a Južnej Amerike. Yaws a pinta sa prejavujú hlavne kožnými léziami, pri bejeli sa ochorenie prenáša napríklad príborom, prítomné sú lézie na sliznici dutiny ústnej, neskôr papuly v ústach a v nazofaryngu, môže sa objaviť aj gumma na koži alebo kostiach.



Obr. 134. Yaws.

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d8/Yaws%2C.PNG.jpg>

Laboratórna diagnostika a liečba

Treponémy sa farbja veľmi slabo a ich veľkosť sa približuje rozlišovacej schopnosti svetelného mikroskopu. Mikroskopia v tmavom poli alebo po impregnácii striebrom umožní znázornenie spirochét vo svetelnom mikroskope. Kultivačne sú veľmi náročné, vyžadujú pH 7,2 - 7,4 a teplotu od 30 – 37 °C, mikroaerofilné prostredie. Na priamy dôkaz je možné použiť imunofluorescenciu.

Tabuľka 27. Syfilis - diagnostické testy.

Diagnostický test	Metóda
Mikroskopia	<ul style="list-style-type: none"> - v tmavom poli (limitované použitie) - priama fluorescencia (na dôkaz antigénu s použitím antitreponémových protilátok značených fluoresceínom) - po impregnácii striebrom
Kultivácia	- nepoužíva sa
Sérologické testy na dôkaz protilátok	<p>Netreponémové testy:</p> <ul style="list-style-type: none"> - využívajú kardiolipín ako antigén, obvykle slúžia ako skriningové - VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) - BWR (Bordetova-Wassermannova komplement fixačná reakcia) - RRR (rýchla reagínová reakcia) - USR (unheated serum reagin) - TRUST (toluidine red unheated serum test) <p>Treponémové testy:</p> <ul style="list-style-type: none"> - používajú <i>T. pallidum</i> ako antigén - FTA-ABS (Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption) - TPHA (Treponema Pallium Haemagglutination Assay) - MHA-TP (Microhemagglutination <i>Treponema pallidum</i>) - TP-PA (<i>T. pallidum</i> particle agglutination) - enzýmové imunometódy

Na dôkaz ochorenia sa v praxi používa dôkaz protilátok v sére. **Netreponémové testy** sa používajú ako skriningové (BWR: Bordetova – Wassermannova komplement fixačná reakcia, VDRL, RRR), stanovujú protilátky proti kardiolipínu, sú nešpecifické (môžu byť pozitívne pri niektorých iných ochoreniach súvisiacich s rozpadom buniek). Tieto testy sa používajú aj na kontrolu účinnosti terapie. **Treponémové špecifické testy** (TPHA, TPI, FTA-ABS) ostávajú pozitívne po celý život, sú špecifické pre treponémové ochorenie. Príležitostne môžu byť falošne pozitívne pri infekcii inými spirochétami (napr. boréliami). Treponémy sú dobre citlivé na penicilín, v prípade alergie sa používa tetracyklín, alebo makrolidy a chinolóny. Pri liečbe 2. a 3. štádia je možný vznik Herxheimerovej reakcie pre rýchle uvoľnenie antigénu po lýze treponém. Špecifická prevencia syfilisu očkovaním nie je k dispozícii.

Kazuistika

39-ročný muž vyhľadal lekára pre niekoľko týždňov trvajúce príznaky: únava, bolesti hlavy, nevoľnosť a migrujúce bolesti kĺbov. V anamnéze pacient udáva sexuálny kontakt s iným mužom, bez použitia prezervatívu. Pri vyšetrení pacienta bol zistený bolestivý vred na hornej pere, mal vyrážky, zjazvené nebolestivé lézie na penise, nesvrbiaci kyberkeratózny výsev na dlaniach a obojstrannú submandibulárnu lymfadenopatiu. Neboli zistené neurologické, očné alebo kardiovaskulárne abnormality, gumma neprítomná. Výsledky laboratórnych vyšetrení: pozitívny výsledok RRR testu, pozitívne špecifické protilátky triedy IgG. Bola stanovená diagnóza sekundárny syfilis.

Aké sú štádiá syfilisu?

Aké testy používame na diagnostiku syfilisu?

Aká je liečba syfilisu?

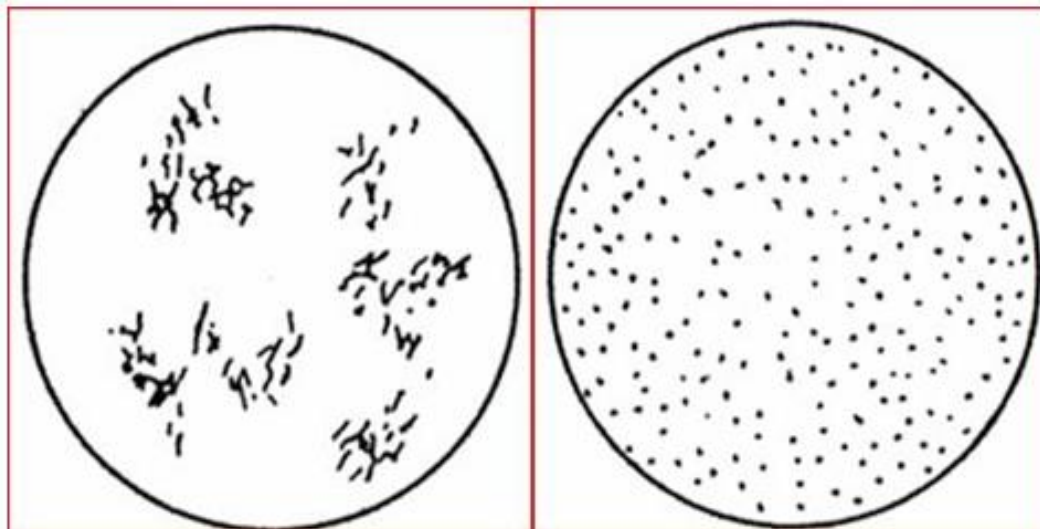
Úlohy na praktické cvičenia

A. Netreponémové testy (nešpecifické, skriningové)

Kardiolipín - je fosfolipid, ktorý je súčasťou bunkových membrán. Uvoľňuje sa z poškodených buniek v mieste infekcie, na čo reaguje imunitný systém tvorbou protilátok. Treponémy stimulujú produkciu týchto antikardiolipínových protilátok, navyše k nej prispievajú aj vlastným kardiolipínom. Protilátky proti kardiolipínu sa nazývajú reagíny.

RRR – rýchla reagínová reakcia - je najpoužívanejším netreponémovým testom na detekciu protilátok proti kardiolipínu. Princípom je flokulačná reakcia, pri ktorej kardiolipín a pacientove antikardiolipínové protilátky vytvárajú viditeľné zhluky.

VDRL - Venereal Disease Research Laboratory - je sklíčkový mikroflokulačný test (netrepónemový), ako antigén sa využíva kardiolipín s cholesterolom a s lecitínom. V prípade prítomnosti antikardiolipínových protilátok sú viditeľné zhluky.



Obr. 135. VDRL – schéma. Reaktívne sérum vľavo.

http://209.61.208.233/en/Section10/Section17/Section53/Section482_1798.htm

B. Treponémové špecifické testy (TPHA, TPI, FTA-Abs)

Ostávajú pozitívne po celý život, sú špecifické pre treponémové ochorenie. Príležitostne môžu byť falošne pozitívne pri infekcii inými spirochétami (napr. boréliami).

TPHA - *Treponema pallidum* hemagglutination – ako antigén sa používa Nicholsov kmeň *T. pallidum* viazaný na kuracie erytrocyty, pozitívny výsledok (hemagglutinácia) sa prejaví po pridaní pacientovho séra, ktoré obsahuje špecifické protilátky.

TPI - *Treponema pallidum* imobilizačný test - sleduje sa inhibícia pohybu treponém pri styku so sérom pacienta chorého na syfyilis

FTA-Abs - fluorescenčný - absorbčný test – je nepriamy fluorescenčný test, ako antigén sa využívajú *T. pallidum* imobilizované na sklíčku. Pridáva sa pacientove sérum a fluoresceínom značená protilátka proti ľudským imunoglobulínom.

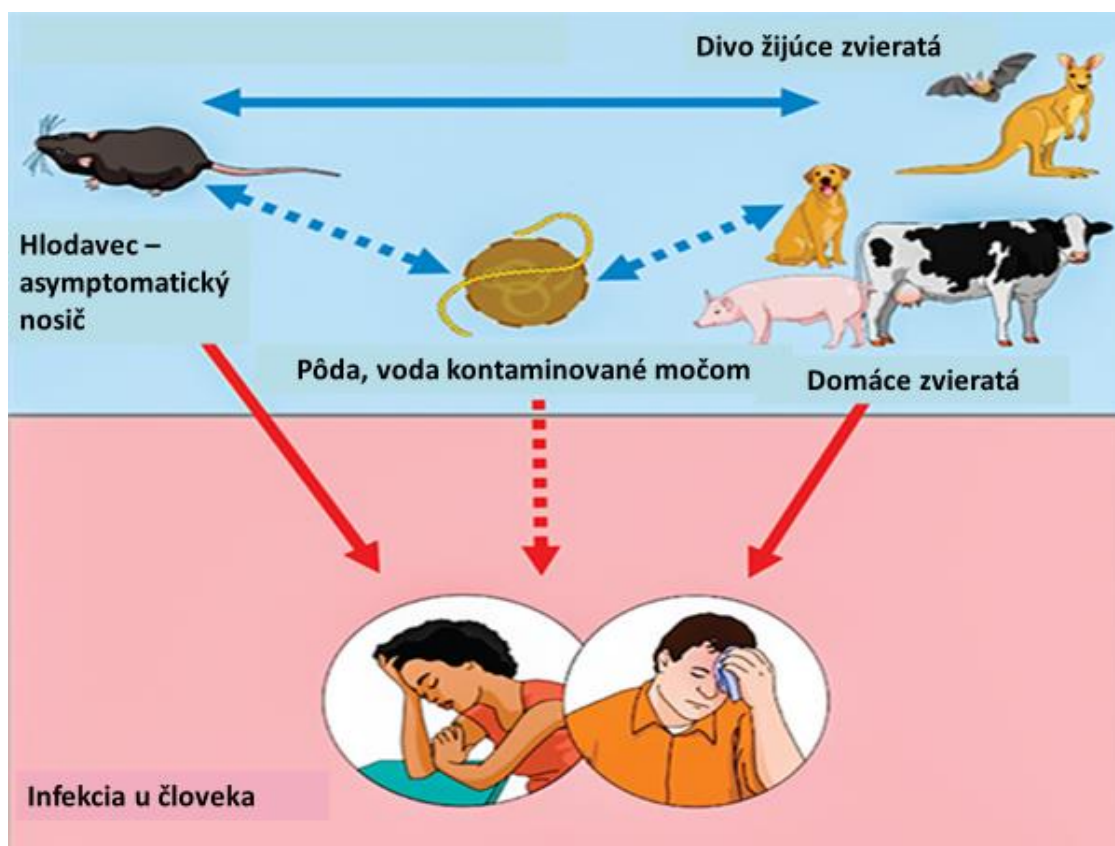
Leptospiry

Rod: *Leptospira*

druh: *interrogans*
icterohaemorrhagica
pomona

Charakteristika

Leptospiry sú špirálovité organizmy, veľmi tenké, obligátne aeróbne baktérie s výraznou pohyblivosťou, optimálna teplota pre ich rast je 28°C - 30°C. Ich štruktúra je podobná iným spirochétam, majú mnohovrstvovú vonkajšiu membránu a bičíky umiestnené v periplazmatickom priestore. Ich nutričné požiadavky zahŕňajú mastné kyseliny a vitamíny B12 a B1. Na základe antigénnej štruktúry rozoznávame viac ako 180 serotypov. Vyvolávajú leptospirózu, ochorenia prejavujúce sa subklinicky až fatálne.



Obr. 136. Leptospiróza – prenos nákazy.

<https://www1.racgp.org.au/ajgp/2018/march/leptospirosis>

Patogénny potenciál a imunita

Porušená sliznica, koža alebo spojovky sú vstupnou bránou pre baktérie. Organizmy vyvolávajú generalizovanú infekciu s bakterémiou (leptospiremická fáza). Po vytvorení protilátok sa leptospiry lokalizujú v obličkách. Protilátky spolu s komplementom majú leptospirocídny účinok. Rozmnožovanie leptospír v obličkách vedie k ich vylučovaniu močom (leptospiurická fáza), ktoré môže perzistovať týždne, mesiace až roky. Leptospiry neprodujú toxíny. Poškodenie endotelovej výstelky kapilár a renálne zlyhanie sú príčinou smrti. Môže byť postihnutý aj centrálny nervový systém. Imunitná reakcia hostiteľa je pravdepodobne zodpovedná za lézie v neskoréj fáze ochorenia. Tento predpoklad potvrdzuje neúčinnosť antibiotík po vzniku klinických príznakov. Imunita je primárne humorálna. Bunková imunitná odpoveď môže byť zodpovedná za neskoré prejavy ochorenia.

Ochorenia

Leptospiróza je zoonóza, zdrojom nákazy je moč infikovaných zvierat. Môže prebiehať inaparentne alebo vo forme symptomatickej infekcie, ktorá sa prejavuje ako chrípkovité ochorenie s bakterémiou, horúčkou a myalgiou. Niekedy sa baktérie dostávajú do CNS a vyvolávajú meningeálne symptómy. Generalizovaná infekcia sa môže prejsť postihnutím pečene a žltáčkou (Weilova choroba). Leptospiry môžu infikovať plod, kongenitálna leptospiróza je charakterizovaná bolesťami hlavy a svalov, horúčkou a difúznou vyrážkou.

Laboratórna diagnostika a liečba

Leptospiry vyvolávajú febrilné ochorenia, často chybné diagnostikované ako vírusová meningitída alebo hepatitída. Diagnóza sa potvrdí mikroskopiou v tmavom poli, mikroaglutináciou alebo imunofluorescenčnými metódami. Kultivácia je veľmi náročná, potrebné sú selektívne pôdy (Cortoffova pôda) a dlhodobá kultivácia (až 6 týždňov). V liečbe je pri včasnom podaní účinný penicilín alebo tetracyklín.

Kazuistika

V roku 1998 bol dokumentovaný prípad účastníkov pretekov v triatlone v štátoch Illinois (866 športovcov) a Wisconsin (648 športovcov). Účastníci pretekov boli vyšetrovaní na prítomnosť príznakov stanovených ako kritériá pre leptospirózu – bolesť hlavy, myalgia, hnačka, bolesť a začervenanie očí. Uvedené príznaky malo 9% účastníkov pretekov, dve tretiny vyhľadalo lekárske ošetrovanie, z toho jednu tretinu hospitalizovali, pričom u niektorých bola na základe serologických testov potvrdená leptospiróza.

Ako sa športovci s potvrdenou leptospirózou mohli nakaziť?
Aké sú klinické príznaky leptospirózy?
Aká je laboratórna diagnostika a liečba leptospirózy?

Borélie

Rod: *Borrelia*

druh: *recurentis, burgdorferi, afzelii*

Charakteristika




Borélie sú považované za extracelulárne patogény, dokážu však napádať fibroblasty a endotelové bunky. Borélie vyvolávajú dva typy ochorení – návratnú horúčku (epidemickú aj endemickú) a lymskú boreliozu. Borélie sú prenášané vektorom. U epidemickej návratnej horúčky vši, u endemickej horúčky a boreliózy sú vektorom kliešte. Štrukturálne sú podobné leptospirám. Ich bunková stena obsahuje rôzne druhy lipidov vrátane cholesterolu. Antigénna štruktúra je komplikovaná a je podstatou rôznych druhov a sérotypov. Borélie sú relatívne veľké baktérie (0,5x30 µm), sú dobre viditeľné vo svetelnom mikroskope po ofarbení anilínovými farbivami (Giemsa, Wright).

Patogénny potenciál a imunita

Borélie sú prítomné v tráviacom trakte hmyzieho vektora, pri cicaní krvi sa dostávajú do ľudského tela. Borélie spôsobujú celkové ochorenia, tzv. návratné horúčky, pri ktorých sa striedajú febrilné a afebrilné obdobia. Epidemická horúčka je závažnejšia má vysokú mortalitu a obvykle má len jeden relaps. Vďaka cyklickej antigénnej variácii borélií sa endemická horúčka prejavuje viacerými relapsami.

Borelióza je chronicky prebiehajúce ochorenie prejavujúce sa erythema chronicum migrans (ECM) – kožnou léziou, v ktorej je možné dokázať borélie. Nasleduje generalizovaná infekcia s artritídou alebo neurologickým postihnutím. Vytvorenie protilátok je dôležité pre zvládnutie infekcie. Rýchla razantná terapia vo veľmi skorých štádiách ochorenia vedie k slabému antigénnemu stimulu, nevytvoreniu IgG protilátok a k možnosti reinfekcie. Bez liečby môže ochorenie pokračovať do ďalších štádií.

Tabuľka 28. Borélie – ochorenia, vektor prenosu.

Infekcia	Rezervoár	Vektor	Klinické príznaky
Návratná horúčka - epidemická	človek	voš 	- striedanie febrilných a afebrilných období - obvykle 1 relaps - bolesti hlavy a svalov - splenomegália, hepatomegália - vysoká mortalita (až 40%) príčiny: kardiálne zlyhanie hepatálna nekróza cerebrálne hemorágie
Návratná horúčka - endemická	hlodavce, kliešť	kliešť 	- striedanie febrilných a afebrilných období - až 10 relapsov - bolesti hlavy a svalov - splenomegália, hepatomegália - mortalita približne 5 %
Lymfská borelióza	hlodavce, vysoká zver, domáce zvieratá	kliešť 	- erythema migrans - únava, bolesti hlavy, horúčka - bolesti svalov, lymfadenopatia - artritída, artralgia - kardiálne dysfunkcie - neurologické príznaky

Ochorenia

Lymfská borelióza

Borrelia burgdorferi sensu lato je pôvodcom lymfskej boreliózy. Na základe genetických, fenotypových a imunologických vlastností sa delí na viac genospecies. U nás sa vyskytujú hlavne druhy *B. garinii* a *B. afzelii*, *B. burgdorferi* sensu stricto len zriedka. Borélie prenášajú kliešte druhu *Ixodes ricinus*. Rozlišujú sa 3 štádiá ochorenia lymfskej boreliózy:

1. štádium: včasné lokalizované štádium (o 3 dni až 6 týždňov po prisatí kliešťa) - je sprevádzané charakteristickou pomaly sa šíriacou červenou škvrnou (erythema migrans), ktorá sa objaví v mieste prisatia kliešťa asi u tretiny postihnutých. Súčasťou

tohto štádia sú nešpecifické príznaky ako bolesť hlavy, zvýšená teplota, nechutenstvo, únava, bolesti svalov a kĺbov, lymfadenitída.

2. štádium: včasné diseminované štádium (niekoľko týždňov až mesiacov po infekcii) - je charakterizované zápalovým postihnutím CNS (serózna meningitída), srdca, oka (konjunktivitída), kĺbov (migrujúce artralgie) alebo kože (boréliový lymfocytóm). V tejto fáze ochorenia, najčastejšie v 3. - 4. týždni po infekcii sa začínajú tvoriť IgM protilátky. Tvorba IgG protilátok začína okolo 4. - 6. týždňa.

Pre 3. neskoré štádium (viac ako 6 - 12 mesiacov po infekcii) sú charakteristické chronické zmeny rôznych orgánov, hlavne kĺbov, kože (acrodermatitis chronica atrophicans) a nervového systému. *B. afzelii* spôsobuje hlavne postihnutie kože, *B. garinii* neuroboreliózu a *B. burgdorferi* s. s. artritídu a neuroboreliózu.



Obr. 137. Erythema chronicum migrans.

http://www.dr-gumpert.de/html/borreliose_symptome.html

Laboratórna diagnostika a liečba

Mikroskopia v tmavom poli sa používa na dôkaz návratnej horúčky. Borelióza sa stanovuje sledovaním dynamiky tvorby protilátok IgM a IgG ELISA testom. Výber testu musí byť prispôsobený sérotypu alebo typu borélií prevládajúcich v danej oblasti. Pri neuroborelióze je možné dokázať intratekálnu tvorbu protilátok stanovením indexu porovnaním špecifických a nešpecifických imunoglobulínov a albumínu v sére a CSM (hodnoty nad 1,5 sú suspektné). Protilátky proti boréliám môžu spôsobovať nešpecifickú pozitivitu treponémových (nie kardiolipínových) sérologických testov. Western blot sa považuje za upresňujúcu metódu a využíva sa najmä pri nejasných a rozporných výsledkoch základných sérologických metód. Ťažiskom diagnostiky boreliózy je nepriama sérológia. Metóda priameho dôkazu pomocou PCR sa v laboratórnej praxi využíva len ojedinele (metóda nie je štandardizovaná). Liečba je dlhodobá, používa sa penicilín, tetracyklín a cefalosporíny. Pri razantnej liečbe môže vzniknúť Herxheimerova reakcia.

Kazuistika

62-ročnej žene odstránili epitelóm na čele, ranu pokryli kožným štepom. Na zmiernenie opuchu v mieste štepu jej prikladali lekárske pijavice. Žena absolvovala štyri procedúry, pijavice boli počas každej z nich ponechané na rane 1 hodinu. O 11 dní po chirurgickom zákroku došlo k infekcii štepu a k jeho následnému odstráneniu. Kultivačným vyšetrením vzoriek zo štepu, tekutiny z kontajnera pre pijavice a aj samotných pijavíc bola zistená prítomnosť *Aeromonas* spp. Pacientka podstúpila parenterálnu liečbu antibiotikami a úspešnú retransplantáciu bez aplikácie pijavíc.

Aké sú základné charakteristiky rodu *Aeromonas*?

Aké ochorenia vyvolávajú aeromonády?

OTÁZKY

1. Aké sú základné charakteristiky spirochét?
2. Ktoré ochorenia vyvolávajú treponémy?
3. Ako sa prenáša syfilis?
4. Ako sa klinicky prejavuje syfilis?
5. Aká je laboratórna diagnostika syfilisu?
6. Ako sa lieči syfilis?
8. Ktoré ochorenia vyvolávajú borélie a ako sa prenášajú?
9. Aká je diagnostika a liečba infekcií vyvolaných boréliami?
10. Ako sa prenášajú leptospiry?
11. Aká je klinická manifestácia leptospiroz?
12. Ako sa liečia infekcie vyvolané leptospirami?

1.13 Baktérie bez bunkovej steny

Rod: *Mycoplasma*

druh: *pneumoniae*
hominis

Rod: *Ureaplasma*

druh: *urealyticum*

Charakteristika

Do radu *Mycoplasmatales* sú zaradené štyri rody, z ktorých pre človeka najvýznamnejšie sú rody *Mycoplasma* a *Ureaplasma*. Mykoplazmy a ureaplazmy sú najmenšie a najjednoduchšie samostatne sa rozmnožujúce baktérie. Majú najmenší

genóm zo všetkých prokaryotických buniek. Nemajú bunkovú stenu a osídľujú sliznice respiračného a genitálneho traktu. Môžu byť súčasťou fyziologickej flóry, často sú kontaminantami bunkových kultúr. Morfológicky sa javia ako veľmi malé koky alebo ako predĺžené či filamentózne formy. Majú veľmi obmedzené možnosti metabolizmu a biosyntézy. Bunková membrána obsahuje steroly. Mykoplazmy sú fakultatívne anaeróbne s výnimkou *M. pneumoniae*, ktorá je striktne aeróbna. Ureaplazmy vyžadujú ureu na vytvorenie energetického gradientu (premena urey na amoniak zabezpečí produkciu ATP).

Tabuľka 29. *Mycoplasma pneumoniae* - diagnostické testy.

Diagnostický test	Význam
Mikroskopia	- nepoužíva sa - baktérie nemajú bunkovú stenu, nefarbia sa konvenčnými metódami
Kultivácia	- pomalá (trvanie 2-6 týždňov) - malé zrnité kolónie - morušovitý vzhľad
Molekulárne testy	PCR - test má výbornú senzitivitu - nie je dostupný vo všetkých laboratóriách
SEROLOGICKÉ TESTY	
Komplement fixačná reakcia (KFR)	- titer protilátok - najvyššie titre detekovateľné okolo 4. týždňa - zotrvávajú vo vysokých hladinách 6-12 mesiacov - nízka senzitivita a špecificita
Enzymové imunometódy	- detekcia IgM a IgG - vyššia senzitivita ako KFR a kultivácia - sledovanie tvorby protilátok
Chladové aglutiníny	- IgM protilátky, ktoré sa viažu na ľudské erytrocyty pri 4°C - nízka senzitivita a špecificita - skrížená reaktivita s EBV*, CMV** a adenovírusmi

* Epstein-Barrovej vírus, ** Cytomegalovírus

Patogénny potenciál a imunita

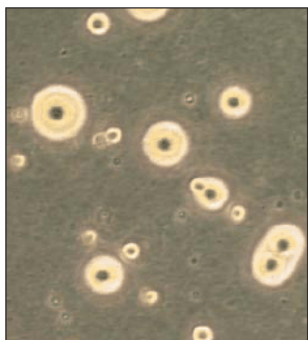
Mikroorganizmy majú na povrchu P1 faktor, ktorý sa viaže na špecifický receptor na povrchu bunky a umožňuje adhérenciu na epitel dýchacích ciest. Mykoplazmy spôsobujú atypickú pneumóniu s postupným nástupom a miernym až stredne ťažkým priebehom. Rekonvalescencia je dlhá a môžu sa vyskytnúť komplikácie (CNS, srdce). Ureaplasma spôsobuje negonokokovú uretritídu. Baktérie nie sú invázne a spôsobujú poškodenie na povrchu buniek vysokou koncentráciou toxických metabolitov (peroxid vodíka, inhibícia katalázy hostiteľskej bunky, amoniak). Spôsobujú tiež ciliostázu. Imunitná odpoveď je humorálna aj bunkami sprostredkovaná - mononukleárna. Imunopatologické následky a autoprotilátky môžu vzniknúť z dôvodu skríženej reaktivity membránových glykolipidov mykoplazmiem.

Ochorenia

M. pneumoniae vyvoláva ochorenia dýchacích ciest - **primárnu atypickú pneumóniu, tracheobronchitídy**, zriedkavejšie **faryngitídy**. *Mycoplasma hominis* primárne kolonizuje sliznice pohlavných orgánov a močovej rúry. Môže spôsobovať **absces Bartholiniho žľazy, vaginitídu, cervicitídu, salpingitídu** a ojedinele aj **pyelonefritídu**. *Ureaplasma urealyticum* sa nachádza v urogenitálnom systéme aj u zdravých ľudí. Môže sa podieľať na vzniku nekvapavkového zápalu močovej rúry, u mužov aj zápalu prostaty. U žien sa izoluje **pri potratoch, mŕtvo narodených plodoch a pri neplodnosti**.

Laboratórna diagnostika a liečba

Kultivácia je možná na komplexných pôdach s penicilínom. Na agarovej pôde majú kolónie mykoplaziem tvar volského oka, *M. pneumoniae* vytvára kolónie morušovitého vzhľadu. Potvrdenie mikroorganizmov je možné imuno fluorescenčnou metódou s použitím značených protilátok. Priama diagnostika sa uskutočňuje biochemicky. Laboratórny dôkaz ochorenia spôsobeného *M. pneumoniae* (atypická pneumónia) sa robí pomocou dôkazu špecifických IgM a IgG protilátok, prípadne celkových protilátok serologickými diagnostickými testami (Tabuľka 29). Mykoplazmy a ureaplazmy nie sú citlivé na antibiotiká pôsobiace na úrovni bunkovej steny. V liečbe sa využívajú tetracyklín, chloramfenikol, aminoglykozidy a makrolidové antibiotiká.



Obr. 138. *M. pneumoniae* – charakteristické kolónie pripomínajúce volské oko.

<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/testing-for-mycoplasma.html>

Kazuistika

Vysokoškolská študentka, 21-ročná, prišla na vyšetrenie pre pretrvávajúce bolesti hlavy, kašeľ, horúčku, nočné potenie a celkovú malátnosť. Pri vyšetrení mala neproduktívny kašeľ, ťažko sa jej dýchalo, pulz: 95 úderov/minútu, frekvencia dýchania: 28/minútu. Mala začervenaný hltan, auskultačne boli na pľúcach počuteľné ojedinelé chrapoty, RTG vyšetrenie pľúc odhalilo infiltráty. Gramovým farbením spúta sa nedokázala prítomnosť mikroorganizmov, boli však prítomné leukocyty. Pacientke bola odobratá krv na sérologické vyšetrenie, KFR na detekciu protilátok proti *M. pneumoniae* ukázalo, že pri prijatí bol titer týchto protilátok 8, pri ďalšom odbere o týždeň bol titer protilátok 32. V priebehu dvoch týždňov, kedy bola pacientka liečená erytromycínom, sa stav začal pomaly upravovať.

Aké diagnostické testy sa používajú na dôkaz *M. pneumoniae*?
Aké charakteristické vlastnosti majú mykoplazmy a ureaplazmy?

OTÁZKY

1. Čím sa odlišujú mykoplazmy od ostatných baktérií?
2. Ktoré ochorenia u človeka vyvolávajú mykoplazmy?
3. Aká je laboratórna diagnostika mykoplaziem?
4. Ako sa liečia infekcie vyvolané mykoplazmami?

1.14 Striktne intracelulárne baktérie

Rickettsia, Orientia

Rod: *Rickettsia*

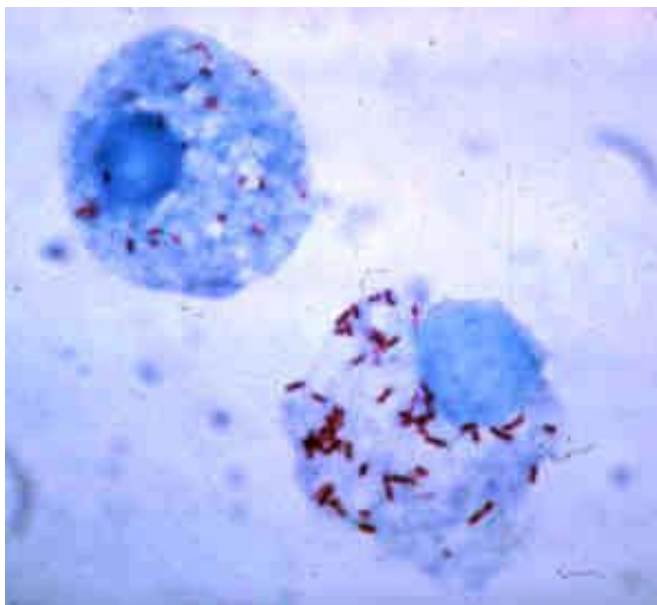
druh: *rickettsii*, *proWazeki*, *typhi*

Rod: *Orientia*

druh: *tsutsugamushi*

Charakteristika

Baktérie z čeľade *Rickettsiaceae* sú typické gramnegatívne paličky, majú tenkú vrstvu peptidoglykán a lipopolysacharid so slabou endotoxínovou aktivitou. Sú to obligátne intracelulárne parazity. Nemajú bičiky, slabo sa farbja podľa Grama. Baktérie z rodu *Orientia* nemajú peptidoglykán ani lipopolysacharid. Baktérie z tejto čeľade sú prenášané článkonožcami (kliešte, blchy, roztoče, vši), rezervoárom sú rôzne živočíchy a článkonožce. Človek je náhodným hostiteľom.






Obr. 139. *Rickettsia rickettsii*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/86/Rickettsia_rickettsii.jpg

Patogénny potenciál a imunita

Baktérie infikujú endoteliálne bunky. Penetráciu umožňuje enzým fosfolipáza. Replikácia baktérií spôsobuje lýzu buniek a následné šírenie baktérii do iných buniek. V mieste vstupu vzniká lokálna lézia, po ktorej nasleduje diseminácia vaskulárnou cestou s vývojom vaskulitídy a kožných prejavov (vyrážka). Lézie môžu byť až nekrotické. Virulencia je pravdepodobne multifaktoriálna – uvoľnenie endotoxínu, tvorba imunokomplexov a hypersenzitívna reakcia. Ochorenie sa prejaví charakteristickou triádou - horúčka, bolesť hlavy a vyrážka. Baktérie z rodu *Rickettsia* sa nachádzajú voľne v jadre a v cytoplazme infikovaných buniek, množia sa a ďalej infikujú priľahlé bunky. V imunitnej odpovedi sa uplatňuje produkcia cytokínov, cytokínmi sprostredkované intracelulárne zabíjanie a klírens prostredníctvom cytotoxických CD8 lymfocytov. Dôležitá je aj protilátková odpoveď na proteíny vonkajšej membrány.

Tabuľka 30. Riketsie – ochorenia, vektor prenosu.

Baktéria	Ochorenie	Vektor	Rezervoár
<i>R. rickettsii</i>	horúčka Skalistých hôr	kliešte 	kliešte, hlodavce
<i>R. akari</i>	Riketsiové kiahne	roztoče 	roztoče, divo žijúce hlodavce
<i>O. tsutsugamushi</i>	Horúčka tsutsugamushi („scrub“ týfus)	roztoče (piesočné blchy), divo žijúce hlodavce	
<i>R. prowazekii</i>	Epidemický týfus (škvrnitý týfus)	voš šatová 	Človek, veverice, blchy
<i>R. typhi</i>	Endemický týfus	Blchy 	Divo žijúce hlodavce, mačky

Ochorenia

R. rickettsii vyvoláva **horúčku Skalistých hôr**, vektorom prenosu sú **kliešte**. Ochorenie je charakterizované porušením endotelových buniek v cievach, hypovolémiou, hypoproteinémiou a šokom

R. typhi spôsobuje **endemický týfus**, ochorenie je prenášané **blchami**, prejavuje sa horúčkou, bolesťami hlavy a svalov, makulopapulózny exantém je prítomný na hrudníku a bruchu.

R. prowazeki je vyvolávateľom **epidemického týfusu, označovaného aj ako škvrnitý týfus**, vektorom prenosu je **voš šatová**. Prejavuje sa vysokou horúčkou, trvajúcou nepretržite 8 – 10 dní, bolesťami hlavy, svalov, kĺbov a petechiálnym makulóznym exantémom.

Orientia tsutsugamushi vyvoláva tzv. „**scrub**“ **týfus**, vektorom prenosu sú **piesočné blchy**. Ochorenie sa prejavuje horúčkou, bolesťami hlavy, svalov, postupne sa vyvíja makulopapulózna vyrážka, môže sa objaviť generalizovaná lymfadenopatia, splenomegália a postihnutie centrálného nervového systému.

Laboratórna diagnostika a liečba

Priamy dôkaz je možný z bioptického materiálu imuno fluorescenciou. Možná je aj izolácia na tkanivových kultúrach. Manipulácia je veľmi riskantná kvôli nožnej laboratórnej nákaze. Weil-Felixová reakcia sa používala na dôkaz protilátok skrížene reagujúcich s antigénmi OX19, OX2, OXK *Proteus mirabilis*. V liečbe je úspešné podávanie tetracyklínu a cloramfenikolu.

Kazuistika

24-ročný muž zo Severnej Karolíny bol prijatý do nemocnice pre pretrvávajúcu horúčku, bolesti kĺbov a svalov a celkovú únavu. Štyri dni pred prijatím mal horúčku 40°C, pri prijatí bola horúčka 39,7°C, krvný tlak 100/60 mm Hg, pacient mal vyrážky na končatinách, vrátane dlaní aj chodidiel. Desať dní pred nástupom klinických príznakov pacient udáva, že mal na tele mnoho kliešťov. Lekári stanovili predbežnú diagnózu - horúčka Skalistých hôr. Výsledky serologických testov potvrdili ochorenie.

Ktorá baktéria vyvoláva horúčku Skalistých hôr?

Ktoré rickettsie sú prenášané nasledujúcimi vektormi: kliešte, roztoče, vši, blchy?

Aké sérologické testy sa používajú na diagnostiku infekcií vyvolaných rickettsiami?

Coxiella, Ehrlichia, Anaplasma

Rod: *Coxiella*

druh: *burnetii*

Rod: *Anaplasma*

druh: *phagocytophilum*

Rod: *Ehrlichia*

druh: *chaffeensis, ewingii, canis*

Charakteristika

Rod *Coxiella* zahŕňa intracelulárne baktérie, ktoré sa vyskytujú v dvoch variantoch: malé bunkové formy (rezistentné na vonkajšie faktory) a veľké bunkové formy (sú metabolicky aktívne). Baktérie z rodu *Ehrlichia* a *Anaplasma* sú intracelulárne baktérie, ktoré infikujú granulocyty, monocyty, erytrocyty a krvné doštičky, vyskytujú sa v dvoch formách: ako malé, elementárne telieska a väčšie retikulárne telieska.

Patogénny potenciál a imunita

Rod *Coxiella*: malé formy napádajú makrofágy a monocyty, sú internalizované vo fagocytických vakuolách, za určitých podmienok odolávajú intarcelulárnemu zabíjaniu. Tieto baktérie vyvolávajú chronické ochorenia.

Baktérie z rodov *Anaplasma* a *Ehrlichia* sú vďaka ich intracelulárnej lokalizácii chránené pred účinkami protilátkovej odpovede hostiteľa, vyvolávajú ľudskú granulocytárnu ehrlichiozu.

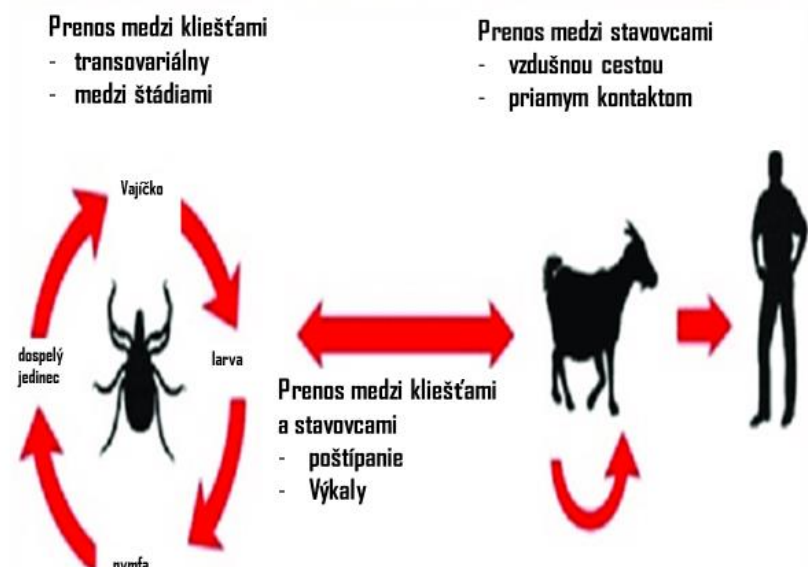
Ochorenia

C. burnetii, ktorá bola pôvodne zaradená medzi rickettsie, môže byť prítomná v nepasterizovanom mlieku a v mliečnych výrobkoch, alebo sa prenáša inhalačne. Vyvoláva Q horúčku - ochorenie charakterizované miernymi príznakmi, u niektorých pacientov sa môže manifestovať ako pneumónia a hepatitída s horúčkou. Choroba však môže prebiehať aj vo forme chronickej infekcie, spojenej s endokarditídou, chronickou hepatitídou, arteritídou a infekciou kostnej drene. Chronická forma ochorenia postihuje pacientov s predisponujúcimi faktormi, napríklad u ľudí s poškodením srdcových chlopní sa môže prejaviť ako subakútna endokarditída.

Ehrlichie vyvolávajú ochorenie známe ako ľudská monocytárna ehrlichioza (infekcia monocytov a mononukleárných fagocytov v tkanivách a orgánoch). Klinicky sa ochorenie prejaví 1-2 týždne po prisatí kliešťa, je charakterizované vysokými horúčkami, bolesťami hlavy a svalov.

Anaplazmy vyvolávajú granulocytárnu ehrlichiozu, primárne postihnuté sú neutrofily, eozinofily a bazofily. Ochorenie môže prebiehať s miernymi príznakmi podobnými chrípke. Vážnymi komplikáciami sprevádzajúcimi ochorenie sú demyelinizujúca polyneuropatia a obrna tváre.

Pre ochorenia vyvolané ehrlichiami a anaplazmami je typická leukopénia, trombocytopénia a zvýšenie sérových transamináz.



Obr. 140. Q horúčka – prenos.

Laboratórna diagnostika a liečba

Ehrlichie a anaplazmy sa diagnostikujú pomocou mikroskopie, kde je typická prítomnosť morúl, preparáty sa pripravujú z krvných náterov farbených podľa Giemsu a Wrighta. Mikroskopia *C. burnetti* sa v praxi nepoužíva. Priama diagnostika sa opiera aj o detekciu baktériovej DNA. Nepriama diagnostika je založená na detekcii špecifických protilátok metódou ELISA alebo imunofluorescenciou. V liečbe infekcií sa osvedčili tetracyklín, rifampicín a doxycyklín, pri Q-horúčke sa používajú aj makrolidy, fluorochinolóny, kotrimoxazol a chloramfenikol.

Kazuistika

30-ročný pacient bol hospitalizovaný, udával horúčku trvajúcu 11 mesiacov, nočné potenie, záchvaty kašľa, únavu a úbytok na váhe. Užíval rôzne antibiotiká na bronchitídu, bez zlepšenia stavu. Pacient mal vrodené ochorenie srdca, diagnostikované a liečené od detstva. Pacient žije na farme, prichádza do styku so zvieratami, najmä pri pôrodoch teliat. Pri prijatí bol zistený šelest srdca, hepatosplenomegália neprítomná, boli zvýšené pečňové enzýmy. Hemokultivačné vyšetrenia krvi boli negatívne, nepotvrdila sa prítomnosť baktérií a húb. Sérologické vyšetrenia potvrdili zvýšené protilátky proti *C. burnetii*. Bola indikovaná liečba doxycyklínom a rifampicínom. Pacientovi klesla horúčka, bolo odporučené dlhodobé pokračovanie v liečbe.

Ako sa pacient mohol nakaziť?
Aká je patogenéza Q horúčky?

1.15 Chlamýdie a chlamydoфіly

Rod: *Chlamydia*
druh: *trachomatis*

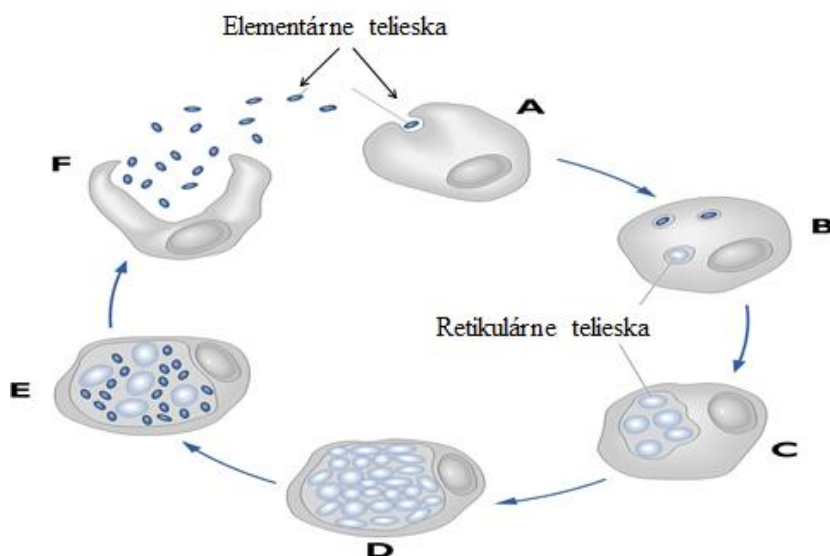
Rod: *Chlamydophila*
druh: *pneumoniae*
psittaci

Charakteristika

Chlamýdie sú obligátne intracelulárne mikroorganizmy, veľmi malé, pôvodne považované za veľké vírusy. Medzi baktérie sú zaradené na základe:

- prítomnosti oboch nukleových kyselín
- prítomnosti vnútornej a vonkajšej membrány, ktoré sú podobné membránam gramnegatívnych baktérií
- prítomnosti prokaryotických ribozómov
- syntézy vlastných proteínov, nukleových kyselín a lipidov
- citlivosti na antibakteriálne antibiotiká

V bunkovej stene je prítomný lipopolysacharid so slabou endotoxínovou aktivitou a hlavný proteín vonkajšej membrány (MOMP, z angl.- major outer membrane protein). Intracelulárny parazitizmus je podmienený potrebou využiť hostiteľské štruktúry pre energetický metabolizmus. Chlamýdie majú charakteristický vývojový cyklus, počas ktorého sa tvoria infekčné elementárne telieska a intracelulárne retikulárne telieska.



Obr. 141. Vývojový cyklus chlamýdií.

http://www.ppdictionary.com/bacteria/bwum/chlamydia_life_cycle.jpg

Patogénny potenciál a imunita

Elementárne infekčné telieska sa uchytiť na sliznici a sú internalizované. Intracelulárne sa reorganizujú a vytvoria retikulárne telieska. Po 24 hodinách sa delia a opäť reorganizujú na elementárne telieska. Po 48-72 hodinách po infekcii dochádza k lýze postihnutých buniek, infekčné elementárne telieska sú uvoľnené a infikujú ďalšie

bunky. *C. trachomatis* sa dostáva do oka kontaminovanými rukami, výnimočne hmyzom, infekcia môže vzniknúť aj perinatálne. Zápalová reakcia, vaskularizácia a jazvenie vedú ku slepote. *C. psittacci* a *C. pneumoniae* sú prenášané inhalačnou cestou. Patogenetické mechanizmy nie sú celkom jasné. Chlamýdie indukujú tvorbu interferónu. Špecifické protilátky nie sú obvykle protektívne a perzistencia chlamýdií je častá.

Tabuľka 31. Chlamýcie - prehľad ochorení.

Baktéria	Ochorenie
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Trachóm: chronický granulomatózny zápal oka, ulcerácie na rohovke, jazvenie, slepota Konjunktivitída (dospelí): akútny mukopurulentný zápal, dermatitída, infiltrácie na rohovke, vaskularizácia rohovky Novorodenecká konjunktivitída: akútny zápal, mukopurulentná sekrécia Pneumónia u detí: nádcha, bronchitída, suchý neproduktívny kašeľ Urogenitálne infekcie: akútna infekcia, hnisavý výtok, často asymptomické u žien Lymphogranuloma venereum: tvorba nebolestivých vredov, zápal a opuch lymfatických uzlín, systémová progresia
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Respiračné infekcie: asymptomické, mierny priebeh závažné – atypické pneumónie Atherosclerosis: spojenosť so zápalovými infiltrátmi v cievach (etiológia je kontroverzná)
<i>Chlamydophila psittaci</i>	Respiračné infekcie: asymptomická kolonizácia, závažná bronchopneumónia, nekróza, krvácanie

Ochorenia

Chlamydia trachomatis (sérotypy L1, L2, L2a, L2b, L3) vyvoláva chronické sexuálne prenosné ochorenie - **lymphogranuloma venereum (LGV)**. Na genitáliách sú prítomné nebolestivé ulcerácie. Dochádza k postihnutiu inguinálnych lymfatických uzlín, ktoré sú zväčšené, bolestivé, vytvárajú pakety (bubo), môže dôjsť k ich ruptúre a k vytvoreniu drénujúcich fistúl. Rovnaké sérotypy *C. trachomatis* vyvolávajú aj **Parinaudov okuloglandulárny syndróm** (konjunktivitída, postihnutie preaurikulárnych, submandibulárnych a cervikálnych lymfatických uzlín). *C. trachomatis* vyvoláva **trachóm** - chronické ochorenie s prejavmi folikulárnej konjunktivitídy, postihnutia viečka, môže dôjsť k zjazveniu rohovky a postihnutiu zraku, až k slepote. U novorodencov *C. trachomatis* vyvoláva **neonatálnu konjunktivitídu**, u starších detí **pneumóniu** s charakteristickým kašľom („staccato“ kašeľ).

Chlamydophila pneumoniae vyvoláva **sínusitídy, faryngitídy, bronchitídy a pneumónie**. Pneumónia je veľmi ťažké odlíšiť od atypických pneumónií vyvolaných mykoplazmami alebo legionelami.

Chlamydophila psittaci vyvoláva psitakózu, infekciu prenosnú od vtákov. Ochorenie postihuje respiračný trakt, pečeň a slezinu, zriedkavo myokard.



Obr. 142. Lymphogranuloma venereum (LGV).

<http://www.huidziekten.nl/afbeeldingen/soa/soalgv2.jpg>

Laboratórna diagnostika a liečba

Jódom farbené preparáty znázorňujúce inklúzne telieska boli nahradené dôkazom antigénu imunoanalytickými metódami (ELISA, ELISPOT, IFA). Pre priamu diagnostiku je dôležitý správny odber (vo vzorke je potrebná prítomnosť infikovaných buniek). Nepriamy dôkaz infekcie je možný imunoserologickými metódami na dôkaz špecifických IgG a IgM protilátok. V liečbe sa používajú erytromycín, azitromycín, tetracyklín. U sexuálne prenosných ochorení je potrebné preliečiť aj sexuálnych partnerov.

Kazuistika

Niida a kol. (1998) opísali infekcie u dvoch novorodencov. Išlo o dve dievčatá, prvé sa narodilo v 39. týždni prirodzenou cestou, druhé v 40. týždni cisárskym rezom, obe boli zdravé. Prvé dieťa dostalo horúčku na 3. deň, druhé na 13. deň po pôrode. RTG vyšetrenie hrudníka odhalilo infiltráty na celých pľúcach u obidvoch novorodencov. Boli indikované kultivačné vyšetrenia krvi, moču, výteru hrdla a stolice, všetky výsledky boli negatívne. Vzorky odobraté zo spojovkového vaku a z nazofaryngu boli testované na prítomnosť chlamýdiových antigénov, výsledky boli pozitívne.

Ako mohlo dojsť k nákaze novorodencov?

Prečo sa penicilín nepoužíva na liečbu infekcií vyvolaných chlamýdiami?

OTÁZKY

1. Aká je morfológia riketsií?
2. Aké ochorenia u ľudí vyvolávajú riketsie?
3. Aká je laboratórna diagnostika riketsií?
4. Ako sa liečia infekcie vyvolané riketsiami?
5. Aké sú charakteristické vlastnosti chlamýdií?

6. Opíšte rastový cyklus chlamýdií.
7. Aké ochorenia vyvolávajú chlamýdie?
8. Aké sú metódy laboratórnej identifikácie chlamýdií?
9. Ako sa liečia infekcie vyvolané chlamýdiami?

1.16 Acidorezistentné baktérie

Pre skupinu acidorezistentných baktérií je typická prítomnosť charakteristických mastných kyselín. Mykobaktérie obsahujú mykolové kyseliny so 70 - 90 uhlíkmi, nocardie majú kratšie reťazce mykolových kyselín (41-56 uhlíkov) a sú označované aj ako čiastočne acidorezistentné.

Mykobaktérie

Rod: *Mycobacterium*

druh: *tuberculosis*
leprae

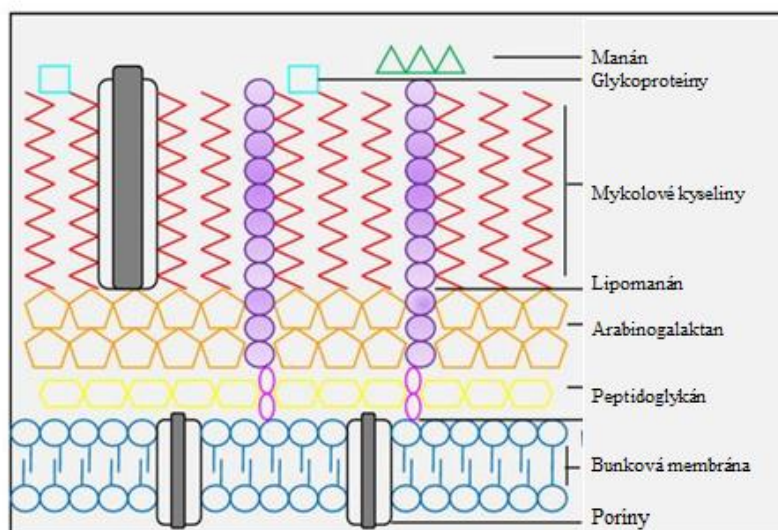
Mycobacterium tuberculosis

Charakteristika

Mykobaktérie sú acidorezistenté paličky, ktoré odolávajú odfarbeniu silnými kyselinami s alkoholom. Majú veľmi dlhú generačnú dobu. Bunková stena, obsahujúca veľké množstvo lipidov, mastných kyselín a voskov, poskytuje mykobaktériám ochranu napríklad pred vyschnutím, kyselinami alebo zásadami. Je tiež adjuvantnou látkou stimulujúcou humorálnu a hlavne bunkovú imunitu. Mykobaktérie produkujú dimykolát trehalózy („cord faktor“), ktorý je zodpovedný za ich charakteristické usporiadanie (povrazce, hadovité usporiadanie). *Mycobacterium tuberculosis* je rozšírené na celom svete. Rezervoárom je človek, infekcia sa šíri najčastejšie inhaláciou infikovaného aerosolu. Riziko nákazy je zvýšené u imunokompromitovaných pacientov (vrátane osôb s AIDS), u alkoholikov, užívateľov drog alebo u osôb, ktoré sú v priamom kontakte s infikovanými pacientmi.

Klasifikácia mykobaktérií je založená na rastových vlastnostiach a na morfológii kolónií:

***Mycobacterium tuberculosis* komplex** – zahŕňa *M. tuberculosis* a podobné mykobaktérie. Sú to pomaly rastúce mykobaktérie, ktoré vytvárajú buď nepigmentované kolónie, alebo kolónie so slabou pigmentáciou (svetložlté). Do tejto skupiny patria: *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (bacillus Calmette-Guérin). Ostatné mykobaktérie, v odbornej literatúre označované aj ako **netuberkulózne mykobaktérie**, sú rozdelené na základe Runyonovej klasifikácie.



Obr. 143. *M. tuberculosis* – stavba bunkovej steny.

<http://www.hindawi.com/journals/cdi/2011/405310/fig1/>

Klasifikácia podľa Runyona:

I. skupina – pomaly rastúce fotochromogénne – produkujú pigment na svetle (*M. kansasii*, *M. marinum*)

II. skupina – skotochromogénne – produkujú pigment v tme aj na svetle (*M. gordonae*)

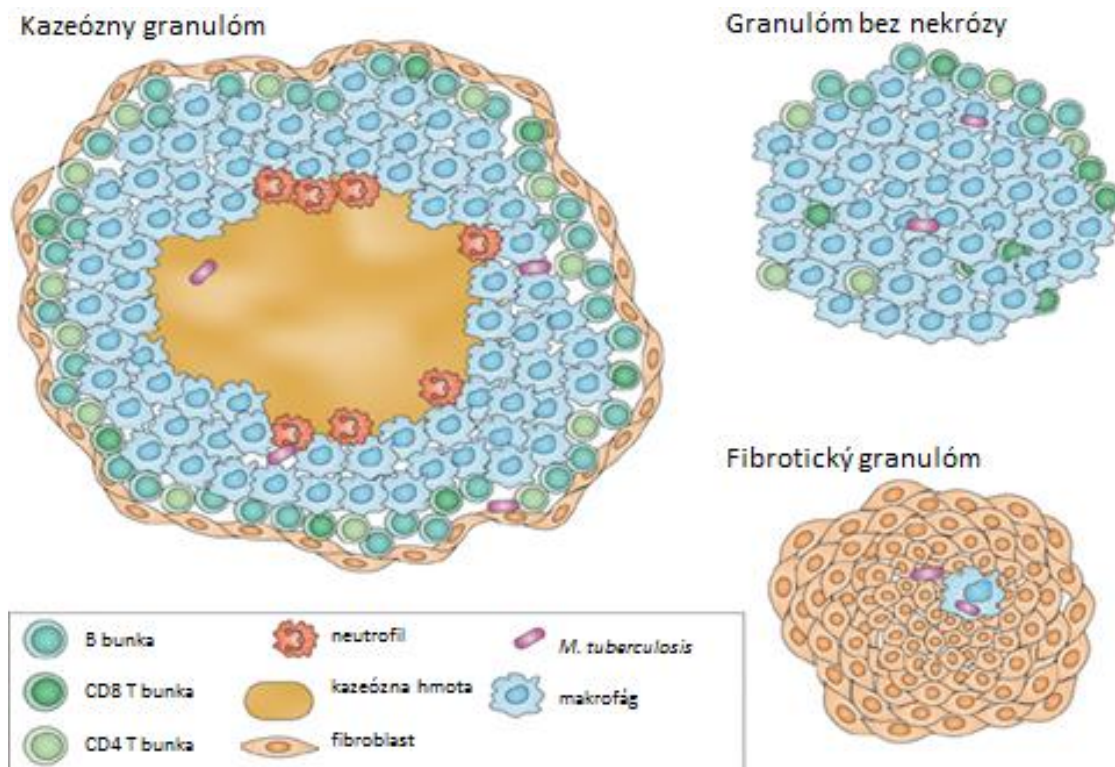
III. skupina - pomaly rastúce nepigmentované (*M. avium*, *M. intracellulare*)

IV. skupina - rýchlorastúce nepigmentované (*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*)

Pigmentované mykobaktérie produkujú intenzívne žlté karotenoidy.

Patogénny potenciál a imunita

Baktérie vstupujú do dýchacích ciest, prenikajú do alveolov, kde sú pohltené alveolárnymi makrofágmi. Mykobaktérie majú schopnosť intracelulárneho prežívania vo fagolyzozómoch (bránia fúzii fagozómu s lyzozómami). Ako odpoveď na infekciu makrofágy produkujú interleukín-12 (IL-12) a tumor nekrotizujúci faktor- α (TNF- α), ktoré stimulujú lokálnu zápalovú odpoveď s nahromadením T-buniek a NK-buniek. V mieste infekcie dochádza k diferenciácii T-buniek na Th1 bunky (pomocné lymfocyty) a k následnej sekrécii interferónu γ (IFN- γ), ktorý stimuluje ďalšiu aktiváciu makrofágov. Celý proces vedie k zvýšeniu intracelulárneho zabíjania, vytvárajú sa granulómy, pričom efektivita eliminácie baktérií závisí od veľkosti infekčného ložiska. Alveolárne makrofágy, epiteloidné bunky a obrovské Langhansove bunky s intracelulárne uloženými mykobaktériami vytvárajú centrálnu nekrotickú masu, ktorá je ohraničená stenou tvorenou makrofágmi, CD4, CD8 a NK bunkami. Táto štruktúra – granulóm – bráni ďalšiemu šíreniu baktérií. Imunita je sprostredkovaná bunkami (oneskorený typ hypersenzitivity). Vo vnútri ložiska vzniká kazeózna nekróza (syrovitá hmota), ktorá môže kalcifikovať.



Obr. 145. *M. tuberculosis* – štruktúra granulómov.

http://www.nature.com/nrmicro/journal/v7/n12/fig_tab/nrmicro2236_F3.html

Ochorenia

Prameňom infekcie je najčastejšie chorý človek. Mykobaktérie sa šíria vzdušnou cestou a do organizmu vstupujú dýchacími cestami inhaláciou drobných infekčných kvapôčok. Človek chorý na TBC pri pľúcnej forme vylučuje mykobaktérie z organizmu vykašľaním spúta, pri urogenitálnej alebo črevnej forme močom, stolicou. Vstupnou bránou infekcie je najčastejšie dýchací systém, o čom svedčí aj vysoký podiel pľúcnej TBC, ktorá tvorí 80 - 90 % všetkých foriem TBC. Zvýšenú citlivosť voči infekcii TBC majú oslabení jednotlivci (imunodeficiencia a infekcia HIV), starší jedinci a ľudia s polymorbiditou, hlavne pri cukrovke, vredovej chorobe žalúdka, alkoholizme, narkománii alebo pri liečbe kortikoidmi a imunosupresívami. Tuberkulóza je chronicky prebiehajúca infekčná choroba spôsobená predovšetkým bacilmi *Mycobacterium tuberculosis* (95 % prípadov). Hlavným cieľovým orgánom sú pľúca, ale mykobaktérie môžu spôsobiť chorobný proces aj v mimopľúcnych štruktúrach. Rozdelenie orgánového postihnutia podľa posledných kritérií SZO je nasledovné:

1. Pľúcna tuberkulóza, ktorá postihuje parenchým pľúc. Nepatrí sem tuberkulóza vnútrohruďných uzlín, ani zápal pohrudnice s pohrudničným výpotkom, ak nie je súčasne prítomný rtg nález v pľúcnom parenchýme.

2. Mimopľúcna (extrapulmonálna) tuberkulóza postihuje mimopľúcne štruktúry. Závažnými formami sú meningitída (zápal mozgových blán), perikarditída (zápal osrdcovníka), peritonitída (zápal pobrušnice), extenzívny pleurálny (pohrudnicový) výpotok, spinálna, intestinálna (črevná) a urogenitálna (močopohlavná) tuberkulóza.

Latentná (subklinická) tuberkulózná infekcia znamená usídlenie tuberkulózných mykobaktérií v organizme, ktoré však nevyvolávajú ochorenie. Len asi 10 – 15 % latentne infikovaných osôb skutočne ochoreje na aktívnu tuberkulózu. Rozvoj latentnej formy tuberkulózy v **aktívnu formu** môže prebiehať počas niekoľkých desiatok rokov a vzniká vtedy, ak dôjde z rôznych dôvodov k oslabeniu funkcie obranných mechanizmov človeka.

Laboratórna diagnostika a liečba

Mikrobiologické vyšetrenie biologického materiálu, najčastejšie spúta, sa opiera o klasické a molekulárno-biologické vyšetrovacie postupy. V každom prípade ide o priamy dôkaz *M. tuberculosis* komplexu. Medzi prvé zaradíme jednak mikroskopický dôkaz mykobaktérií, t. j. acidorezistentných paličiek v preparáte z biologického materiálu farbenom podľa Ziehl-Neelsena, jednak kultivačný dôkaz tuberkulózných bacilov izolovaných z infekčných biologických vzoriek po ich spracovaní. Mykobaktérie majú dlhú generačnú dobu, kultivačný čas sa predlžuje na 6 týždňov. Používajú sa tuhé selektívne pôdy na vaječnej báze (Löwenstein – Jensen médium) alebo s agarom (Middlebrookova pôda). Kultivácia sa robí aj na tekutých pôdach, ktoré môžu podporovať rýchlejšiu rast niektorých mykobaktérií. Mykobaktérie rastú v charakteristických karfiolovitých kolóniách alebo vo forme sedimentu alebo blanky v tekutých pôdach. Atypické mykobaktérie sa identifikujú podľa typu kolónií, tvorby pigmentu a rýchlosti rastu. Molekulárno-biologickými metódami určujeme prítomnosť DNA/RNA *M. tuberculosis* komplexu v infekčnej vzorke.

Cieľom liečby nie je len vyliečenie chorého na tuberkulózu, ale aj prevencia relapsov choroby a zamedzenie prenosu TBC infekcie na osoby, ktoré boli alebo sú v kontakte s pacientom. Tuberkulóza sa vždy lieči kombináciou antituberkulotík (AT), ktoré majú tri základné vlastnosti zastúpené v rozličnej miere: baktericídnu aktivitu, schopnosť sterilizácie vnútorného prostredia a schopnosť prevencie vzniku rezistencie mykobaktérií. Isoniazid a rifampicín sú najsilnejšími a najúčinnnejšími liekmi proti všetkým populáciám *M. tuberculosis*, pyrazinamid je účinný v kyslom prostredí v makrofágoch, streptomycín pôsobí hlavne v extracelulárnom prostredí a etambutol sa používa v kombinácii s predchádzajúcimi antituberkulotikami pri prevencii liekovej rezistencie.

Tabuľka 32. *M. tuberculosis* – diagnostické testy.

Diagnostický test	Metóda
Imunodiagnostika	Tuberkulínový kožný test IGRA (interferon γ - release assay)
Mikroskopia	Farbenie podľa Ziehl-Neelsena
Kultivácia	Tuhé a tekuté selektívne pôdy - dlhodobá
Detekcia nukleových kyselín	Amplifikačné testy
Identifikácia	- morfológické vlastnosti - biochemické vlastnosti - analýza lipidov bunkovej steny - detekcia nukleových kyselín

Svetová zdravotnícka organizácia (SZO) odporúča presné schémy liekových režimov. V každej krajine sú rešpektované aj národné smernice boja proti TBC, ktorých súčasťou sú aj aktuálne liekové schémy. Antituberkulotiká sa používajú dlhodobo (3-6 mesiacov)

u lepry aj 18 mesiacov. **Rezistencia u *Mycobacterium tuberculosis*** je spontánna genetická mutácia, ktorá je vo veľkej miere vyvolaná nesprávnym konaním človeka. Za primárne rezistentné kmene sa považujú tie, ktoré boli izolované zo vzoriek od novodiagnostikovaného jedinca. Ako získaná (sekundárna, akvirovaná) rezistencia sa označujú prípady, keď bol pacient liečený na TBC minimálne 1 mesiac. Primárna rezistencia sa vyskytuje zriedkavejšie. Podľa definícií Svetovej zdravotníckej organizácie (SZO) sú kmene mykobaktérií označované ako:

monorezistentné - s rezistenciou na jedno zo základných antituberkulotík,

polyrezistentné - s rezistenciou na dve a viac antituberkulotík,

multirezistentné (MDR-TB) - s rezistenciou minimálne na izoniazid a rifampicín

X-liekovo rezistentné (XDR-TB) - s rezistenciou na izoniazid, rifampicín, fluorochinolóny a minimálne jedno injekčne podávané antituberkulotikum druhej línie (kanamycín, amikacín, kapreomycín),

extrémne rezistentné - XXDR-TB - s rezistenciou voči všetkým dostupným antituberkulotikám.

Najčastejšie príčiny vzniku MDR-TB a XDR-TB sú : neadekvátny liečebný režim, nesprávne dávkovanie liečiv, nedostatočná kontrola a monitorovanie liečby, prerušované užívanie liekov, skrátenie liečebného režimu, opakované prepuknutie ochorenia, pridružené ochorenia a imunodeficientní pacienti (AIDS, renálna insuficiencia, hepatopatia, malabsorpcia), zlé znášanie terapie, nárast skupín s rizikovými faktormi pre vznik a šírenie TBC (bezdomovci, väzni, drogový závislí a pod.).

Hierarchický algoritmus pri vytváraní terapeutických režimov:

1. **prvá skupina** (izoniazid, rifampicín, pyrazínamid, etambutol),
2. **fluorochinolóny** (ofloxacín, ciprofloxacín, levofloxacín, moxifloxacín, gatifloxacín),
3. **injekčne podávané antituberkulotiká** (streptomycín, kanamycín, amikacín, kapreomycín),
4. **perorálne antituberkulotiká druhej skupiny** (cykloserín, terzidon, etionamid, PAS),
5. **tretia skupina alebo experimentálne preparáty** (amoksiklav, klaritromicín, klofazidim, linezolid).

Zisťovanie citlivosti mykobaktérií na antituberkulotiká sa robí odporúčaným testom na tuhých alebo tekutých pôdach s konštantnou koncentráciou antituberkulotika. Vyšetrovaný kmeň sa inokuluje v dvoch riedeniach (najčastejšie 10^3 – 10^5) na pôdy s antituberkulotikom a na kontrolné pôdy. Po 3-týždňovej inkubácii sa vypočíta percento (proporcia) rezistentných kmeňov v testovanej populácii. Kmene, u ktorých na pôde s príslušnou antituberkulóznou látkou vyrástlo 0 – 1% počtu kolónií vyrastených na kontrolnej pôde, sa hodnotia ako citlivé, ostatné ako rezistentné. Keďže klasické metódy kultivácie a testovania citlivosti na antituberkulotiká sú časovo veľmi náročné a výsledky sú často známe až po niekoľkých mesiacoch, hľadajú sa možnosti diagnostiky v moderných, predovšetkým molekulárno-biologických metódach. V súčasnosti sa využívajú na kultiváciu a testovanie citlivosti na antituberkulotiká tekuté kultivačné médiá inkubované v automatických prístrojoch. Tieto automaty sú na základe chemických alebo fyzikálnych zmien v médiu schopné stanoviť prítomnosť mykobaktérií a vyhodnotiť citlivosť na základné antituberkulotiká v priebehu 10 - 14 dní. Molekulárno-biologické metódy skracujú čas potvrdenia prítomnosti patogéna vo vyšetrovanej vzorke, jeho identifikáciu a profil citlivosti na niekoľko hodín. V súčasnosti sa využíva niekoľko známych metód, ktoré sú schopné identifikovať 16 druhov mykobaktérií a potvrdiť rezistenciu na 2 najdôležitejšie antituberkulotiká - rifampicín a izoniazid - a tým diagnostikovať MDR-TB. Na prevenciu ochorenia je

dostupné očkovanie **BCG vakcínou**. Jeho účinnosť nie je absolútna, ale ochraňuje pred najzávažnejšími formami tuberkulózneho ochorenia v detskom veku a zvyšuje odolnosť proti atakom infekcie pri kontakte s prameňom infekcie. Očkovanie sú novorodenci najskôr 4. deň po narodení. Opakovaná BCG vakcinácia (revakcinácia) je povinná u tuberkulín-negatívnych pacientov po dosiahnutí 10. roku života.

Kazuistika

V roku 2000 boli v Kalifornii prezentované prípady štyroch žien, u ktorých bol zaznamenaný vznik furunkulov na dolných končatinách. Všetky pacientky mali spočiatku na rukách malé, erytematózne papuly, ktoré sa v priebehu niekoľkých týždňov zväčšovali, postupne sa menili na mäkké vrede fialovej farby. Kultivačné vyšetrenia vzoriek odobratých z kožných lézií boli negatívne, empirická liečba antibiotikami bola neúčinná. Vyšetrením nechtového štúdia, ktoré ženy navštevovali, sa zistilo, že rovnaké príznaky malo celkovo až 110 osôb. Kultivačným vyšetrením sa potvrdila prítomnosť *M. fortuitum* u 32 žien, tieto mykobaktérie boli izolované aj z kúpeľa, používaného pred pedikúrou, holenie nôh predstavovalo rizikový faktor pre vznik infekcie.

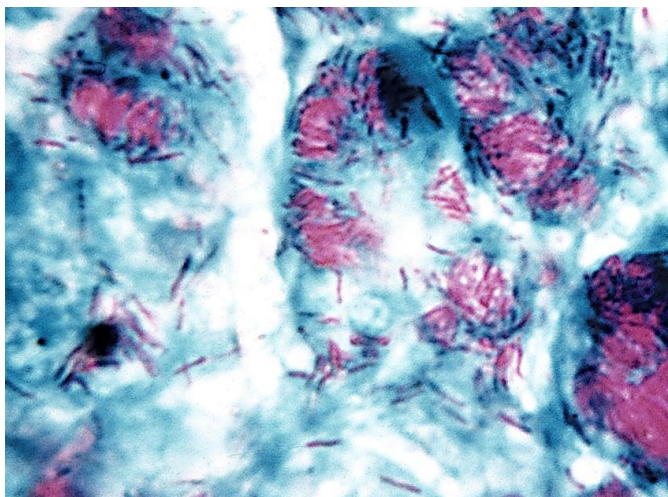
Ako sa kultivujú mykobaktérie?

Ako sa rozdeľujú netuberkulózne baktérie?

Mycobacterium leprae

Charakteristika

Mycobacterium leprae je pomaly sa množiaca baktéria, ktorá vyvoláva lepru. Inkubačná doba je veľmi dlhá, príznaky sa môžu objaviť až po 20 rokoch od prvej infekcie. *M. leprae* (**Hansenov bacil**) je intracelulárna, pleiomorfna, pomaly rastúca acidorezistentná palička, stavba bunkovej steny je typická pre mykobaktérie. Je nekultivovateľná na umelých kultivačných médiách.



Obr. 146. *M. leprae* - mikroskopia.

<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/leprae.htm>

Patogénny potenciál a imunita

Lepra (malomocenstvo) je chronické infekčné ochorenie, ktoré napáda nervový systém, obzvlášť nervy na rukách, nohách a na tvári, a iné chladnejšie časti tela - kožu a sliznice. Vo veľmi vážnych prípadoch sa môžu bacily nachádzať aj v lymfatických uzlinách, semenníkoch, slezine, pečeni a kostnej dreni. Ochorenie býva označované ako paucibacilárne (PB) alebo multibacilárne (MB) v závislosti od množstva infekčného agens. Podľa prevahy humorálnej alebo bunkovej imunity vzniká pri infekcii *M. leprae* tuberkuloidná alebo lepromatózna forma. Tuberkuloidná forma (paucibacilárna) sa vyvíja u pacientov so silnou bunkovou imunitnou odpoveďou. Lepromatózna forma (multibacilárna) je prítomná u osôb so silnou protilátkovou odpoveďou a s nedostatočnou bunkovou imunitnej reakcie.

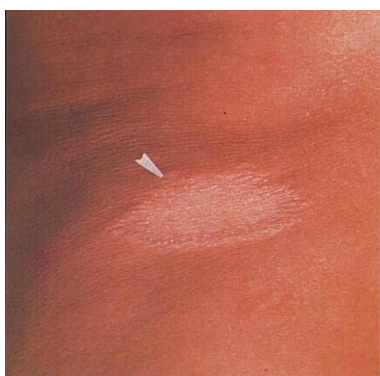
Tabuľka 33. Lepra – klinické prejavy.

Prejavy	Tuberkuloidná lepra paucibacilárna	Lepromatózna forma multibacilárna
Kožné lézie	<ul style="list-style-type: none"> - menej početné, - erytematózne - hypopigmentované - plochý stred, vyvýšené okraje - poškodenie periférnych nervov - úplná strata citlivosti - viditeľné zväčšenie nervov 	<ul style="list-style-type: none"> - mnohopočetné - erytematózne - škvrny, papuly, uzly - výrazná deštrukcia tkanív (chrupky, kosti, uši) - postihnutie nervov - čiastočná strata citlivosti
Infekčnosť	NÍZKA	VYSOKÁ
Imunitná odpoveď	- oneskorená hypersenzitivita na lepromín	- nereaktívna na lepromín
Hladina imunoglobulínov	- normálne hodnoty	- hypergamaglobulinémia
Erytéma nodosum	- neprítomné	- zvyčajne prítomné

Ochorenie

Lepra sa prenáša najčastejšie priamym kontaktom s chorým človekom, inhaláciou infekčného aerosolu alebo kontaktom so sekrétmi s dýchacích ciest alebo z rán. Typickým znakom ochorenia sú viditeľné bledé kožné lézie. S postupujúcim priebehom ochorenia sa symptómy zhoršujú. Vplyvom poškodenia periférnych nervov dochádza k znecitliveniu končatín, pacient je potom náchylnejší na poranenia a infekcie, ktoré necíti. Stuhnutie svalstva spôsobuje deformácie rúk a nôh. V ťažkých prípadoch dochádza k strate postihnutých častí tela. Veľmi často dochádza aj k strate žmurkacieho reflexu, čo vedie k celkovej slepote. Lepra sa na základe symptómov rozdeľuje na niekoľko typov:

1. Tuberkuloidná lepra - paubacilárna - nie je infekčná, postihuje malé množstvo ohraničených plošných ložísk. Cit v oblasti škvŕn je redukovaný alebo chýba, pokožka je suchá, je viditeľné zdurenie periférnych nervov. Táto forma rýchlo reaguje na liečbu.



Obr. 147. Tuberkuloidná lepra – hypopigmentovaná kožná lézia.

<http://www.stanford.edu/group/parasites/ParaSites2005/Leprosy/clinical.htm>

2. Lepromatózna forma - multibacilárna – infekčná, s histologicky dokázateľnými mykobaktériami. Vyskytuje sa množstvo rozličných kožných škvŕn, prítomnosť uzlovitých infiltrátov, tvorba vredov a deformít. Reakcia na liečbu je pomalá, poškodenie nervov a paralýza sa objavuje neskôr.

3. Hraničná lepra (borderline lepra) - kombinácia oboch typov. Môže prevládať buď jeden alebo druhý typ.



Obr. 148. Hraničná lepra – kožná lézia.

<http://www.stanford.edu/group/parasites/ParaSites2005/Leprosy/clinical.htm>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika lepry sa opiera o symptomatologický nález. Klinickú diagnózu možno potvrdiť histologickým vyšetrením kožnej biopsie a dôkazom acidorezistentných paličiek v nosovom sekréte, zoškraboch z nosovej sliznice a v nátere zo skarifikovanej kože. Sekréty a stery z kože sa farbja podľa Ziehl-Neelsena, z počtu baktérií v každom zornom poli sa stanoví bacilárny index (BI). Lepromínový kožný test sa používa na detekciu bunkovej imunity. Oneskorená reakcia na lepromín sa prejaví po 2-3 týždňoch tvorbou infiltrátu až nekrózy.

Účinnosť liečby závisí od skorej diagnostiky ochorenia. Svetová zdravotnícka organizácia odporúča kombinovanú terapiu, ktorá môže úplne vyliečiť tuberkuloidnú formu v priebehu 6 mesiacov a lepromatóznu formu do 2 rokov. Terapia pozostáva z kombiácie troch liekov: dapsonu, klofazimidu a rifampicínu a zohráva kľúčovú úlohu v eliminácii tohto ochorenia. Neliečená lepra sa zvyčajne končí smrťou v priebehu 10 - 20 rokov.

Ochorenia vyvolané ostatnými mykobaktériami

M. avium a *M. intracellulare* vyvolávajú ochorenia u zvierat, niektoré sú prenosné na človeka a spôsobujú infekcie hlavne u imunokompromitovaných pacientov. *M. bovis*, *M. kansasii* vyvolávajú ochorenia takmer identické s pľúcnou tuberkulózou, *M. scrofulaceum* postihuje lymfatické tkanivo. Primárne kožné infekcie sú typické pre infekciu *M. ulcerans*, *M. marinum*. Rýchlorastúce mykobaktérie (*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*) majú nízky patogénny potenciál, môžu vyvolať diseminované infekcie, infekcie podkožných tkanív po traume, alebo iatrogénne infekcie.

Kazuistika

V roku 2000 boli v Kalifornii prezentované prípady štyroch žien, u ktorých bol zaznamenaný vznik furunkulov na dolných končatinách. Všetky pacientky mali spočiatku na rukách malé, erytematózne papuly, ktoré sa v priebehu niekoľkých týždňov zväčšovali, postupne sa menili na mäkké vrede fialovej farby. Kultivačné vyšetrenia vzoriek odobratých z kožných lézií boli negatívne, empirická liečba antibiotikami bola neúčinná. Vyšetrením nechťového štúdia, ktoré ženy navštevovali, sa zistilo, že rovnaké príznaky malo celkovo až 110 osôb. Kultivačným vyšetrením sa potvrdila prítomnosť *M. fortuitum* u 32 žien, tieto mykobaktérie boli izolované aj z kúpeľa, používaného pred pedikúrou, holenie nôh predstavovalo rizikový faktor pre vznik infekcie.

Ako sa kultivujú mykobaktérie?

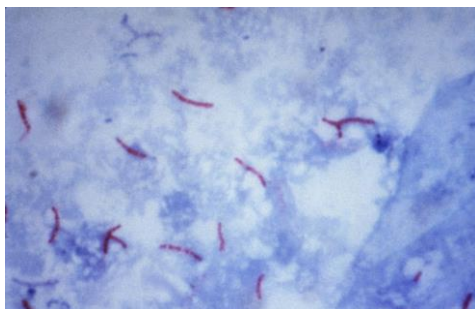
Ako sa rozdeľujú netuberkulózne baktérie?

Úlohy na praktické cvičenia

A. Mikroskopia *M. tuberculosis*

Zafarbite fixovaný preparát *M. tuberculosis* podľa Ziehl-Neelsena, mikroskopujte.

Vzhľadom na vysoký podiel lipidov a voskov v bunkovej stene acidorezistentných baktérií sa na ich farbenie používa špeciálna metodika. Farbenie podľa Ziehl-Neelsena je založené na aplikácii koncentrovaného karbolfuchsinu na fixovaný preparát. Preparát sa zahrieva trikrát do výstupu pár (3-6 minút). Acidorezistentné baktérie ostávajú zafarbené aj po opláchnutí preparátu silnými kyselinami (podstata acidorezistentného farbenia). Na dofarbenie sa použije metylénová modrá alebo malachitová zelená. Acidorezistentné baktérie majú ružovočervenú farbu.



Obr. 149. *M. tuberculosis* – farbenie podľa Ziehl-Neelsena.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/71/Mycobacterium_tuberculosis_Ziehl-Neelsen_stain_02.jpg

B. Tuberkulínový test

Tuberkulínový test (Mantoux II) je celosvetovo akceptovaný spôsob diagnostiky latentnej formy tuberkulózy infekcie. Jeho interpretácia je ale skomplikovaná post vakcinačnou imunitou (BCG vakcinácia). Špecifita a senzitivita vyšetrenia vzhľadom k postvakcinačnej imunite je nízka. Stretávame sa s falošne pozitívnymi výsledkami testu (po BCG vakcinácii, infekcii atypickými mykobaktériami, patologicky zmenenou kožou) ale aj s falošne negatívnym výsledkom tuberkulínového testu napr. po prekonanej vírusovej infekcii alebo očkovaní živou vírusovou vakcínou, po imunosupresívnej liečbe kortikosteroidmi, alebo u pacientov s HIV. Intradermálna aplikácia purifikovaného proteínového derivátu bunkovej steny (tuberkulínu) vyvolá vznik indurácie s erytémom. Podľa veľkosti indurácie sa odlišuje anergizmus (bez reakcie), normoergická reakcia (antiinfekčná imunita), hyperergická reakcia (nedávna alebo súčasná expozícia *M. tuberculosis*).



Obr. 150. Tuberkulínový test – meranie indurácie.

http://www.healthunit.org/infectious/tb/tb_test.htm

C. QuantiFERON[®] TB Goldtest

QuantiFERON - TB Goldtest je najnovší imunologický diagnostický laboratórny test, ktorý napomáha detekovať infekciu *M. tuberculosis*. Je založený na dôkaze a meraní tvorby interferonu-gama (IFN- γ), produkovaného senzibilizovanými T-lymfocytmi, ktoré sú vystavené *M. tuberculosis*. Test zahŕňa 16-24 hodinovú inkubáciu heparinizovanej ľudskej krvi s antigénmi ESAT-6, CFP-10 a TB7.7 a s kontrolným mitogénom. Po inkubácii nasleduje detekcia IFN- γ v plazme pomocou jedнокrokového sendvičového ELISA testu. Mykobakteriálne proteíny ESAT6, CFP-10 a TB7.7 sa vyskytujú iba u *M. tuberculosis* a nie sú prítomné v žiadnom z kmeňov používaných pri BCG vakcinácii, ani vo väčšine netuberkulózných mykobaktérií okrem (*M. kansasii*, *M. marinum* a *M. szulgai*). Chýbanie proteínov ESAT6, CFP-10 a TB7.7 v BCG vakcíne sa využíva práve v diagnostike aktívnej ako aj latentnej tuberkulózy v populácii očkovanej BCG. QuantiFERON TB Goldtest je prínosom pri vyhľadávaní latentnej tuberkulózne infekcie, jeho validita - teda senzitivita aj špecifická sú nepomerne vyššie ako pri tuberkulínovom teste; senzitivita sa odhaduje na 89 %, špecifická až na 98 %.

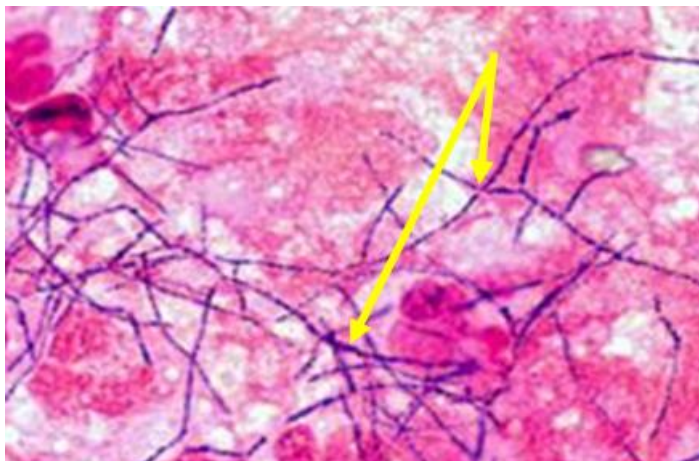
Nokardie a príbuzné baktérie

Baktérie popisované v tejto kapitole sú aeróbne grampozitívne paličky, slabobezrezistentné, v ich bunkovej stene sa nachádzajú mykolové kyseliny. Vyvolávajú široké spektrum ochorení: infekcie kože, pľúc, systémové a oportúnne infekcie.

Rod: *Nocardia*
druh: *asteroides*

Charakteristika

Nokardie sú striktne aeróbne paličky, grampozitívne, niekedy gramlabilné, acidobezrezistentné baktérie. Vytvárajú rozvetvené vlákna, ktoré sú uporiadane do útvarov pripomínajúcich hýfy plesní – pseudomycélium. To sa postupne rozpadáva, vznikajú kokovité alebo paličkovité elementy. V bunkovej stene obsahuje kyselinu mykolovú, je príbuzná s mykobaktériami.



Obr. 151. *Nocardia asteroides* – farbenie podľa Grama.

<http://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=1270>

Patogénny potenciál a imunita

Baktérie vstupujú do ľudského tela inhalčnou cestou alebo prostredníctvom inokulácie do kože. Produkujú toxíny a hemolyzíny, zabraňujú vnútrobunkovému zabíjaniu vo fagocytoch. Patogénne kmene produkujú katalázu a superoxid dizmutázu. Nokardie sa množia v makrofágoch, bránia fúzii fagozómov s lyzozómami.




Ochorenia

Nokardie vyvolávajú pľúcnu hnisavú infekciu, často fatálnu, alebo kožné ochorenie – mycetóm (bez prítomnosti sírnych granúl), sú tiež zodpovedné za vznik lymfokutánných infekcií, celulitídy a subkutánných abscesov. Disemináciou patogénov sa môže vyvinúť infekcia centrálného nervového systému (mozgový absces).

Laboratórna diagnostika a liečba

Pôvodcu ochorenia je možné identifikovať na základe aeróbnej kultivácie na selektívnych pôdach (kultivácia trvá viac ako 7 dní). Mikroskopia je senzitívna a pomerne špecifická. V diferenciálnej diagnostike je dôležitá odlišenie od anaeróbných baktérií a húb, ktoré by mohli byť prítomné vo vyšetrevanej vzorke. Terapia vyžaduje chirurgickú sanáciu hnisavého ložiska a antibiotickú terapiu, používa sa trimetoprim-sulfametoxazol, pri komplikáciách alebo u imunokompromitovaných pacientov sa pridáva amikacín, imipenem a cefalosporíny.

Tabuľka 34. Nokardie a príbuzné baktérie – prehľad ochorení.

Rod	Ochorenia
<i>Nocardia</i> 	<ul style="list-style-type: none">- bronchitída- pneumónia- pľúcne abscesy- mycetóm- lymfokutánne infekcie- celulitída- podkožné abscesy- meningitída- mozgové abscesy
<i>Rhodococcus</i> 	<ul style="list-style-type: none">- pneumónia- pľúcne abscesy- meningitída- perikarditída- oportúnne infekcie
<i>Gordonia, Tsukamurella</i> 	<p>oportúnne:</p> <ul style="list-style-type: none">- infekcie rán- nozokomiálne infekcie- infekcie pľúc- infekcie kože

Nokardiám sú príbuzné rody *Rhodococcus* (*R. equii*), *Gordonia* a *Tsukamurella*. *Rhodococcus* je slabo acidorezistentný patogén, prežíva v makrofágoch a vyvoláva

infekcie u imunokompromitovaných pacientov (invazívne pľúcne infekcie, tvorbu abscesov). *Gordonia* a *Tsukamurella* sú tiež slabo acidorezistentné, sú oportúnne patogény, vyvolávajú nozokomiálne infekcie, ochorenia pľúc a kože (*Gordonia*) a infekcie spojené s prítomnosťou katétrov (*Tsukamurella*).

Kazuistika

63-ročný muž po transplantácii pečene a štvormesačnej liečbe imunosupresívami bol hospitalizovaný s pretrvávajúcou horúčkou, udával bolesti v dolnej končatine. Výsledok RTG vyšetrenia hrudníka bol negatívny, sonografické vyšetrenie odhalilo abscesy v musculus soleus. Bol odoberatý hnis z abscesov, mikrobiologickým vyšetrením sa zistila prítomnosť slabo sa farbiacich grampozitívnych paličiek, kultivačné vyšetrenie potvrdilo prítomnosť *Nocardia* spp. Pacientovi bola indikovaná antibiotická liečba – imipenem, po desiatich dňoch však pacient dostal kŕče a ľavostrannú parciálnu paralýzu. Vyšetrením mozgu sa zistila prítomnosť troch lézií. Antibiotická liečba bola zmenená, pacientovi podávali ceftriaxon a amikacín, abscesy vo svaloch a v mozgu postupne vymizli a pacient bol po dvoch mesiacoch prepustený z nemocnice.

Aké rizikové faktory boli prítomné u tohto pacienta?

Aké infekcie vyvolávajú nokardie?

Ktoré baktérie sú príbuzné nokardiám a aké infekcie vyvolávajú?

OTÁZKY

1. Aké sú základné charakteristiky mykobaktérií?
2. Opíšte stavbu bunkovej steny mykobaktérií.
3. Čo znamená označenie „acidorezistentné“ baktérie?
4. Aké farbenie sa používa na acidorezistentné baktérie?
5. Ako sa prenáša tuberkulóza?
6. Aká je patogenéza vzniku tuberkulózy?
7. Ako vzniká granulóm pri infekcii vyvolanej *M. tuberculosis*?
8. Aké sú klinické príznaky tuberkulózy?
9. Aký materiál sa odoberá od pacienta s tuberkulózou?
10. Ako sa klasifikujú mykobaktérie?
11. Ako sa kultivujú mykobaktérie?
12. Aké sú princípy liečby tuberkulózy?
13. Aký je mechanizmus účinku jednotlivých antituberkulotík?
14. Aké sú príčiny vzniku rezistencie *M. tuberculosis* na antituberkulotiká?
15. Opíšte princíp tuberkulínovej skúšky.
16. Aký je princíp QuantiFERON - TB Goldtest-u?
17. Charakterizujte *M. leprae*.
18. Ako sa klinicky manifestuje lepra?
19. Ako sa diagnostikuje a lieči lepra?
20. Aké ochorenia vyvolávajú nokardie?

2 VÍRUSY

Vírusy sú obligátne intracelulárne patogény, ktoré využívajú biochemické pochody prebiehajúce v hostiteľských bunkách na svoju vlastnú replikáciu. Poznatky o veľkosti a morfológii vírusov, ako aj znalosti o type a štruktúre vírusovej nukleovej kyseliny umožňujú pochopiť princípy replikácie a šírenia vírusov a mechanizmus vzniku vírusových ochorení.

Štruktúra vírusov

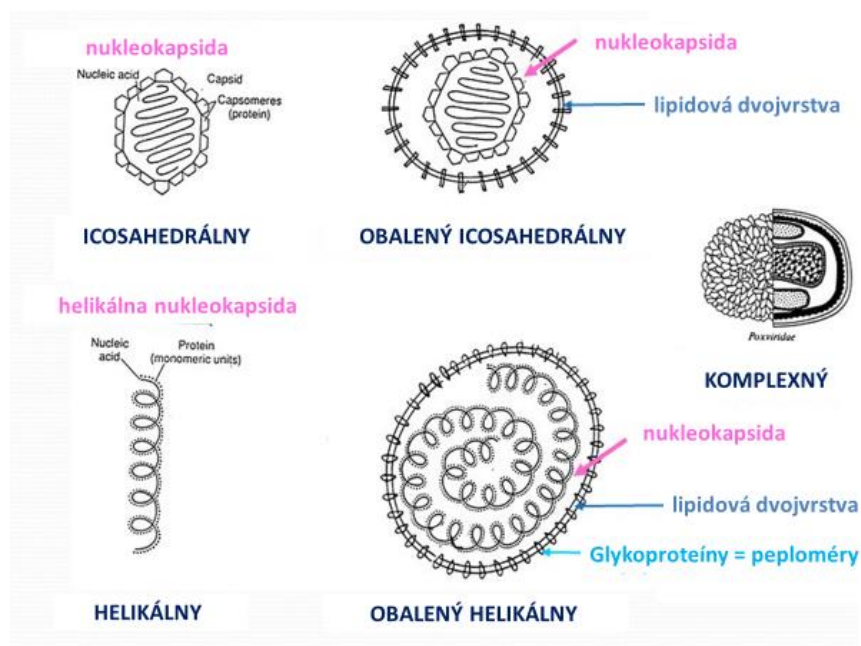
Genóm vírusov je tvorený buď RNA alebo DNA, nukleová kyselina je uložená v ochrannom obale, ktorý sa nazýva kapsida. Genóm tvorený nukleovou kyselinou spolu s proteínovým obalom sa označuje pojmom nukleokapsida, ktorá môže mať ikosaedrálnu, komplexnú alebo helikálnu symetriu. Vírusy sú obalené alebo neobalené. Obalené vírusy získavajú obal prechodom cez bunkové membrány hostiteľských buniek. Obalené vírusy sú infekčné, ak je ich obal neporušený, rôzne chemické látky ako napríklad alkohol alebo detergenty redukovávajú ich infekčnosť.

Klasifikácia vírusov

Medzinárodne uznávaný systém klasifikácie vírusov je založený na type nukleovej kyseliny, štruktúre a kompozícii vírusových častíc.

Nukleová kyselina vírusu:

RNA alebo DNA
jednovláknová alebo dvojvláknová,
nesegmentovaná alebo segmentovaná
lineárna lebo cirkulárna



Obr. 152. Základné typy štruktúry vírusov

<https://slideplayer.com/slide/4643683/>

Štruktúra viriónu:

symetria – ikosahedrálna, helikálna, komplexná

obalený alebo neobalený

počet kapsomér

Baltimorská klasifikácia vírusov je založená na type nukleovej kyseliny, kompozícii vírusového genómu a na hlavných krokoch replikácie a expresie genómu.

Hostiteľské bunky poskytujú substráty, energiu a mechanizmy potrebné na syntézu vírusových proteínov a replikáciu genómu. Základné kroky pri replikácii sú rovnaké pre všetky vírusy:

1. Adsorbcia – prichytenie

Prvým krokom pri vzniku vírusovej infekcie je prichytenie vírusu na povrch hostiteľskej bunky. Vírusové proteíny zodpovedné za prichytenie rozpoznávajú špecifické receptory na povrchu cieľových buniek, ktorými sú proteíny, karbohydráty alebo lipidy. Bunky bez príslušných receptorov nie sú vnímavé na konkrétny vírus.

2. Penetrácia – prienik

Obalené vírusy vnikajú do bunky fúziou priamo s plazmatickou membránou alebo prostredníctvom invaginácie membrány a vytvorením endozómov. Neobalené vírusy prenikajú priamo cez plazmatickú membránu alebo vnikajú do bunky prostredníctvom endozómov.

3. Vyzlečenie

Nukleová kyselina musí byť vyzlečená (zbavená proteínovej kapsidy), aby sa mohla začať replikácia genómu. Po vyzlečení nukleovej kyseliny sa začína fáza eklipsie, ktorá trvá až do vytvorenia novej vírusovej častice.

4. Syntéza vírusovej nukleovej kyseliny a proteínov.

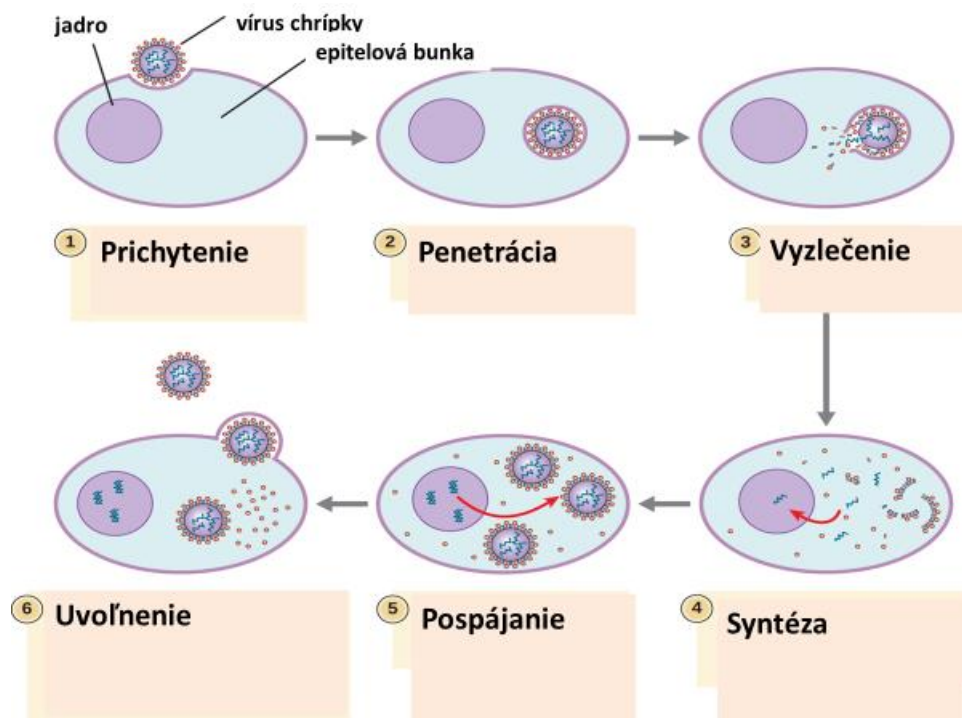
Nukleárne DNA vírusy musia v procese replikácie vytvoriť mRNA, hostiteľské enzýmy potrebné na syntézu mRNA sú prítomné v jadre, preto tieto vírusy vstupujú do jadra. Cytoplazmatické DNA vírusy sa replikujú v cytoplazme, to znamená, že musia na vytvorenie mRNA a syntézu DNA využiť svoje vlastné mechanizmy. RNA vírusy musia pre svoju replikáciu kódovať RNA-dependentnú RNA-polymerázu. RNA vírusy, ktoré kopírujú svoju RNA do DNA kódujú enzým reverznú transkriptázu, ktorý je potrebný pre ich replikáciu (retrovírusy). Ich nukleová kyselina slúži ako templát pre reverznú transkriptázu.

5. Pospájanie

Nové vírusové častice sú poskladané z jednotlivých súčastí. Pospájanie nukleárných DNA vírusov prebieha v jadre.

6. Uvoľnenie vírusových častíc

Vírusové častice sa uvoľňujú prostredníctvom lýzy buniek, obalené vírusy opúšťajú bunku pučaním (pri pučaní nemusí dôjsť k lýze hostiteľskej bunky).



Obr. 153. Replikácia vírusov – schéma.

2.1 DNA vírusy

2.1.1 Neobalené DNA vírusy

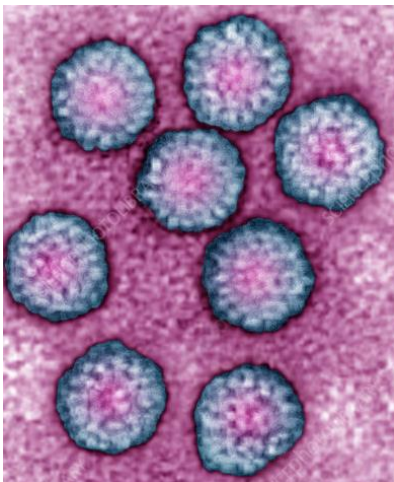
Papillomavírusy

Charakteristika

Ľudské papilomavírusy (HPV) sú malé vírusy s ikosaedrálnou symetriou, obsahujú dvojvláknovú cirkulárnu DNA, replikácia a pospájanie prebieha v jadre. Jednotlivé vírusy sa vyznačujú tkanivovým tropizmom, môžu vyvolávať lytické infekcie u permisívnych buniek.

Patogénny potenciál a imunita

Papilomavírusy vyvolávajú tvorbu bradavíc prostredníctvom stimulácie bunkového rastu, čo vedie k zhrubnutiu bazálnych vrstiev a stratum spinosum. Zväčšené keratocyty sú známe ako koilocyty. Niektoré typy HPV (HPV-16, HPV-18) môžu iniciovať vznik karcinómu krčka maternice. Z obranných mechanizmov sa uplatňuje vrodenná a bunkami sprostredkovaná imunita.



Obr. 154. Papilomavírus.

<https://www.sciencephoto.com/media/656114/view/papilloma-virus-tem>

Ochorenia

HPV vyvoláva tvorbu **bradavíc**, benígnych infekcií kože, ochorenie je samolimitujúce, s inkubačným časom približne 3-4 mesiace. V ústnej dutine môže vyvolať tvorbu solitárnych **orálnych papilómov**. **Laryngeálne papilómy** sú obvykle spojené s infekciou typmi HPV-6 a HPV-11, patria medzi najčastejšie benígne epiteliálne papilómy v laryngu. **Anogenitálne bradavice (condylomata acuminata)** sa vyskytujú v dlaždicovom epiteli vonkajšieho genitálu a perianálnej oblasti, najčastejšie sú vyvolané typmi HPV-6 a HPV-11. **Cervikálna displázia a neoplázia** vznikajú po infekcii genitálneho traktu, infekcia rizikovými typmi HPV. **Rakovina krčku maternice** sa vyvíja v dôsledku progresívnych bunkových zmien od miernej cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie (CIN I), cez neopláziu CIN II až po carcinoma in situ, jednotlivé stupne sa vyskytujú v časovom rozmedzí jedného až štyroch rokov.



Obr. 155. Kožné bradavice.

http://www.bipai.org/educational-resources/aidsatlas.aspx?id=629&ekfxmen_noscript=1&ekfxmense=e9edebdfa_14_18

Laboratórna diagnostika a liečba

Bradavice sa identifikujú na základe histologického vyšetrenia, charakteristická je hyperplázia buniek a hyperkeratóza. Papilomavírusy sa detekujú na základe prítomnosti koilocytov s vakuolizovanou cytoplazmou. DNA molekulárne testy a PCR sa používajú na analýzu vzoriek z krčka maternice. Izolácia na tkanivových kultúrach a stanovenie protilátok sa v praxi nevyužívajú. Bradavice regresujú spontánne, môžu byť odstránené

chirurgicky (kryoterapia, elektrokauterizácia) alebo chemicky (10%-20% roztok podofylínu). V liečbe sa využívajú prípravky na stimuláciu vrodenej imunity a zápalovej odpovede. Pre dievčatá vo veku 11 rokov (pred sexuálnou aktivitou) sú dostupné vakcíny (tetraivalentná: HPV-6, -11, -16, -18, alebo divalentná: HPV-16, -18).

Polyomavírusy

Charakteristika

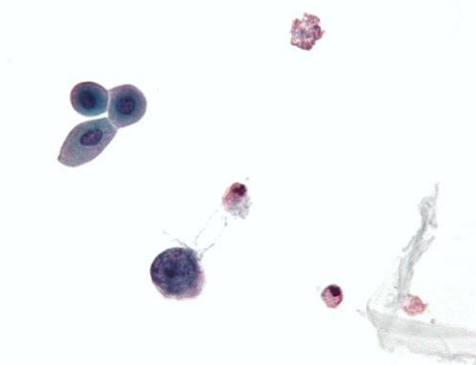
Sú to malé neobalené DNA vírusy, menej komplexné ako papillomavírusy. Do tejto skupiny patria vírusy BK a JC.

Patogénny potenciál a imunita

Vírusy pravdepodobne vstupujú do respiračného traktu alebo do tonzíl, infikujú lymfocyty a obličky s minimálnym cytopatickým efektom. BK vírus vyvoláva latentnú infekciu obličiek, JC vírus infikuje obličky, monocyty a iné bunky. Replikácia je blokovaná u osôb s normálnou funkciou imunitného systému. U pacientov s deficitom T-bunkovej imunity dochádza k reaktivácii vírusu v obličkách, vírus je prítomný v moči (BK vírus), vyvíja sa virémia a postihnutie centrálného nervového systému (JC vírus). JC vírus prechádza cez hematoencefalickú bariéru (replikácia v endoteli kapilár). Produktívna lytická infekcia oligodendrocytov zapríčiňuje demyelinizáciu.

Ochorenia

Primárna infekcia je obvykle asymptomatická, vírusy sa môžu aktivovať napríklad aj počas tehotenstva (nebol zaznamenaný efekt na plod). S BK vírusom sa spája výskyt **uretrálnej stenózy** u pacientov po transplantácii obličiek a **hemoragickej cystitídy** u pacientov po transplantácii kostnej drene. Subakútna demyelinizujúca **progresívna multifokálna leukoencefalopatia (PML)** vyvolaná JC vírusom sa vyskytuje u imunokompromitovaných osôb, pacienti majú neurologické symptómy (poruchy reči, zraku, koordinácie, paralýza končatín). Osoby s PML prežívajú 1-4 mesiace, väčšina umiera do dvoch rokov.



Obr. 156. Bunky infikované polyomavírusom - cytologické vyšetrenie moču.

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Polyomavirus.jpg>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnóza PML sa potvrdí prítomnosťou vírusovej DNA v likvore, v moči alebo v biotických vzorkách pomocou PCR a imunofluorescencie.

Kazuistika

U 25-ročného muža, ktorý pracoval ako tesár sa na dlaniach objavili hyperkeratotické papuly – bradavice, ktoré sa nezmáčovali. Po roku bradavice spontánne vymizli.

Bude sa táto infekcia šíriť aj na iné miesta na tele pacienta?
Keď bradavice spontánne vymizli, došlo k úplnému vymiznutiu vírusu, alebo vírus perzistuje v tele pacienta?
Aký vírus pravdepodobne vyvolal toto ochorenie a aký je mechanizmus vzniku bradavíc?
Je pravdepodobné, že tento typ vírusu je spojený so vznikom rakoviny u ľudí?

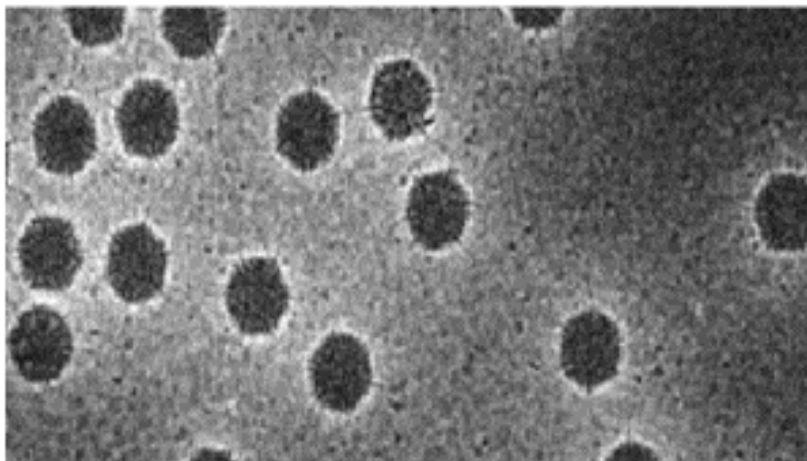
Adenovírusy

Charakteristika

Adenovírusy obsahujú dvojvláknovú lineárnu DNA s terminálnym proteínom. Virióny sú neobalené, majú ikosadeltaedrálnu symetriu. Obsahujú vírusové proteíny pre prichytenie (VAP, angl. viral attachment protein), ktoré pôsobia ako hemagglutíniny. Niektoré adenovírusy využívajú ako receptory molekuly MHC I. Vírusy lyzujú endozomálne vezikuly, vírusová DNA vstupuje do jadra. Replikácia a pospájanie prebieha v jadre, vírus opúšťa hostiteľskú bunku po jej lýze. Ľudské adenovírusy sú rozdelené do skupín A-G. Adenovírusy infikujú najmä deti, infekcie u dospelých sú zriedkavé.

Patogénny potenciál a imunita

Adenovírusy sa prenášajú aerosolom, blízkym kontaktom alebo orofekálnym prenosom, prstami sa môžu preniesť do oka. Vírusové častice infikujú mukoepiteliálne bunky v respiračnom a v gastrointestinálnom trakte, alebo bunky rohovky a spojiviek, pričom vyvolávajú priame bunkové poškodenie (sú schopné vyvolať lytickú alebo latentnú infekciu). Perzistujú v lymfoidnom tkanive (tonzily, Peyerove plaky). V imunitnej odpovedi sa uplatňujú najmä protilátky, bunkami sprostredkovaná imunita je tiež aktivovaná.



Obr. 157. Adenovírusy – elektrónová mikroskopia.

https://www.researchgate.net/figure/Electron-micrograph-of-adenovirus-virions-with-occasional-damaged-particles-embedded-in_fig1_6417762

Ochorenia

Akútna febrilná faryngitída a konjunktiválna horúčka sa vyskytuje najmä u detí mladších ako tri roky, imituje streptokokovú infekciu. **Akútne respiračné ochorenia** sú sprevádzané laryngitídou, nádchou, kašľom, faryngitídou, niekedy sa môže pridružiť bronchiolitída. **Konjunktivitída a epidemická keratokonjunktivitída** môžu vzniknúť pri zanesení infekcie do oka pobytom v bazénoch. **Gastroenteritída a hnačka** sa vyskytujú predovšetkým u detí, vyvolávajú ju typy 40 a 42. Adenovírusy môžu byť príčinou **hemoragickej cystitídy** s hematúriou a s dysúriou u chlapcov. U imunokompromitovaných pacientov sa môže vyvinúť **pneumónia a hepatitída**.

Tabuľka 35. Epidemiológia adenovírusov.

ADENOVÍRUSY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - odolávajú inaktivácii v gastrointestinálnom trakte - rezistentné na vysušenie - príznaky podobné ochoreniam dýchacích ciest vyvolaných inými vírusmi - môžu sa šíriť bez príznakov ochorenia
Prenos	<ul style="list-style-type: none"> - priamy kontakt s aerosolom z dýchacích ciest - priamy kontakt so stolicou - rukami, infikovanými predmetmi - v bazénoch – pri nedostatočnom chlôrovaní
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - deti do 14 rokov - ľudia v rôznych zariadeniach: škôlky, školy, kasárne, plavárne atď.
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - vyskytujú sa celosvetovo - nemajú typický sezónny výskyt
Možnosti prevencie	<ul style="list-style-type: none"> - vakcína pre serotypy 4 a 7 (použitie pre armádu)

Laboratórna diagnostika a liečba

Identifikácia je založená na dôkaze vírusu imunometódami (ELISA, fluorescencia), používajú sa metódy DNA analýzy, PCR. Na izoláciu vírusu z biologických vzoriek sa

používajú bunkové kultúry odvodené od epiteliálnych buniek (ľudské embryonálne bunky, HeLa bunky). V bunkách sú prítomné typické inklúzne telieska. Prevencia (hygiena rúk, chlórovanie bazénov) redukuje šírenie vírusov, liečba antivírusovými preparátmi sa v praxi nepoužíva.

Kazuistika

7-ročného chlapca, účastníka letného tábora, priviedli do nemocnice, udával bolesti hrdla a hlavy a zvýšenú únavu, mal začervenané oči a horúčku 40°C. O niekoľko hodín neskôr sa podobné príznaky prejavili aj u ďalších detí ako aj u vedúcich tábora. Všetci chorí sa kúpali v rybníku, ktorý bol v tábore. Vyšetreniami sa potvrdilo, že vyvolávateľom ochorenia bol adenovírus, serotyp 3.

Aký bol pravdepodobný zdroj nákazy u chlapca a ostatných chorých?
Aké sú základné charakteristiky adenovírusov?
Aký biologický materiál je možné odobrať a následne vyšetriť na prítomnosť adenovírusov?

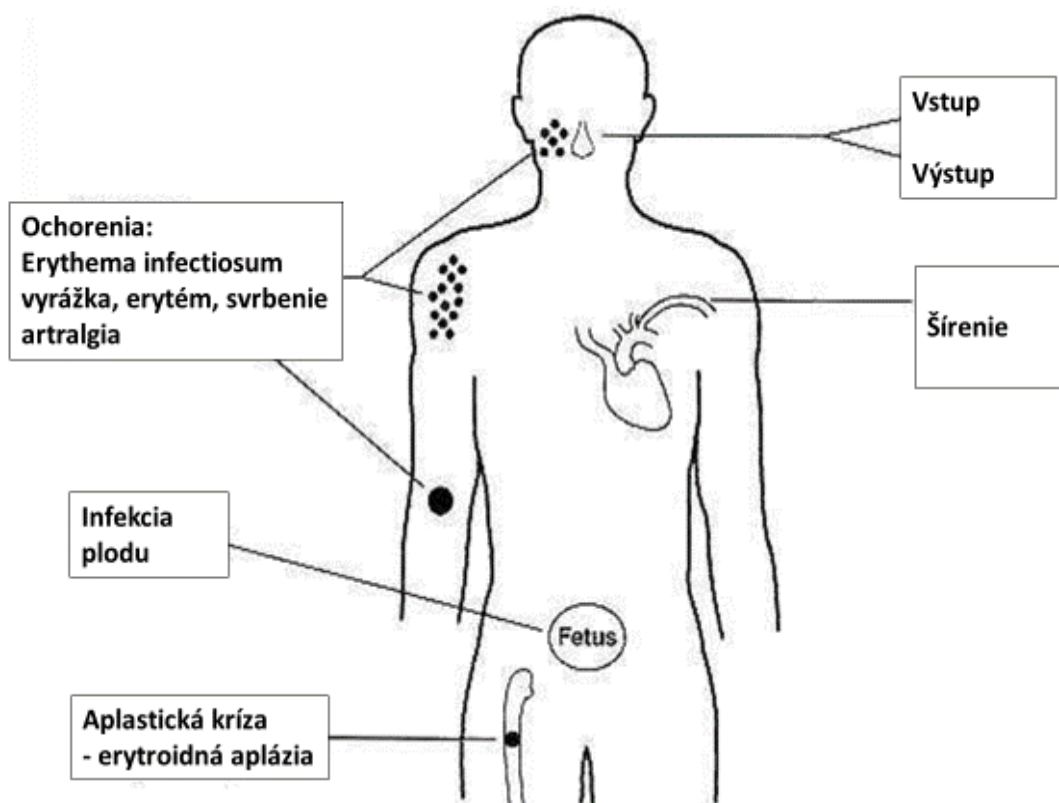
Parvovírusy

Charakteristika

Parvovírusy sú najmenšie DNA vírusy, neobalené, s ikosaedrálnou symetriou. Ľudské ochorenia najčastejšie vyvoláva parvovírus B19, ktorý obsahuje jednovláknovú lineárnu DNA. Replikuje sa v mitoticky aktívnych bunkách (bunky kostnej drene, erytroidné bunky fetálnej pečene). Bocavírus je nedávno objavený vírus, ktorý môže vyvolať akútne respiračné ochorenie s vážnym priebehom u detí.

Patogénny potenciál a imunita

Vírus B19 vstupuje do organizmu cez horné dýchacie cesty, krvnou cestou sa dostáva do kostnej drene, kde vyvoláva lytickú infekciu - inhibuje alebo zabíja erytroidné prekursorové bunky. Nedostatok erytroidných prekursorov a destabilizácia erytrocytov vyvolávajú aplastickú krízu u jedincov s chronickou anémiou. Vírus prechádza cez placentu, môže nakaziť plod. Imunitná odpoveď hostiteľa je hlavne protilátková.



Obr. 158. Parvovírus – klinická manifestácia

<http://virology-online.com/viruses/Parvoviruses.htm>

Ochorenia

Vírus B19 vyvoláva bifázickú infekciu. Iniciálna febrilná fáza je vysoko infekčná, približne za osem dní sa vyvíja virémia, spojená s nešpecifickými príznakmi, podobnými chrípke. Druhá symptomatická fáza je charakterizovaná erytematóznou makulopapulóznou vyrážkou, artralgiami a artritídami. Vyrážka je u detí typicky lokalizovaná na líchach („prefackané“ dieťa). Tieto príznaky vznikajú na základe imunitnej odpovede hostiteľa (prítomnosť cirkulujúcich imunokomplexov, ktoré nefixujú komplement).

Tabuľka 36. Epidemiológia parvovírusu B 19

PARVOVÍRUS B 19	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - vírus je rezistentný na inaktiváciu - obdobie nakažlivosti predchádza symptómy - vírus prechádza placentou, infikuje plod
Prenos	- respiračnou cestou- kvapôčkami z dýchacích ciest
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - deti v predškolskom a školskom veku (erythema infectiosum - piata choroba) - tehotné ženy - osoby s chronickou anémiou- aplastická kríza
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - vyskytuje sa celosvetovo - najčastejší výskyt piatej choroby je na konci zimy a na jar
Možnosti kontroly/prevencie	- - -

Laboratórna diagnostika a liečba

Rutinné diagnostické laboratórne testy nie sú k dispozícii, vírus je možné identifikovať pomocou elektrónovej mikroskopie, je možné využiť testy ELISA, RIA, PCR. Diagnóza sa stanovuje na základe prítomnosti špecifických IgM. Nie je dostupná špecifická terapia.

Kazuistika

Matka priviedla dcéru do ambulancie pediatra. Dieťa malo na lícach červené škvrny a vyrážky, tvár vyzerala, ako by dieťa vyfackali. Žiadne iné príznaky neboli prítomné, nemala horúčku. Matka uvádzala, že v priebehu predchádzajúcich dvoch týždňov dcéra pokašliavala a matka má aktuálne bolesti kĺbov a cíti sa unavená.

Aký vírus pravdepodobne vyvolal opísané príznaky?
Bolo dieťa v čase návštevy lekára infekčné?
Súviseli spolu príznaky opisované u dcéry a matky?

OTÁZKY

1. Charakterizujte papilomavírusy.
2. Aké ochorenia vyvolávajú ľudské papilomavírusy?
3. Aký mechanizmus sa uplatňuje pri vzniku bradavíc?
4. Ktoré vírusy majú vzťah ku vzniku rakoviny krčka maternice?
5. Aké infekcie vyvoláva JC vírus?
6. Aké infekcie vyvoláva BK vírus?
7. Aké sú charakteristické vlastnosti adenovírusov?
8. Ako sa prenášajú adenovírusy?
9. Aké infekcie vyvolávajú adenovírusy?
10. Aká je patogenéza infekcií vyvolaných parvovírusom B 19?
11. Aké sú klinické prejavy infekcie vyvolanej vírusom B 19?

2.1.2 Obalené DNA vírusy

Herpesvírusy

Charakteristika

Herpesvírusy predstavujú širokú skupinu vírusov, ktoré sa rozdeľujú do troch skupín na základe štruktúry genómu, tkanivového tropizmu, cytopatologického efektu a miesta latentnej infekcie. Všeobecne sú herpesvírusy charakterizované ako veľké, obalené vírusy s dvojvláknovou DNA, ohraničenou ikosadeltahedrálnou kapsidou. Kapsida je uzavretá v glykoproteínovom obale. Replikácia genómu prebieha v jadre hostiteľskej bunky. Herpesvírusy majú spoločné znaky (morfológiu viriónu, spôsob replikácie a schopnosť vyvolať latentnú a rekurentnú infekciu). Sú citlivé na kyseliny, rozpúšťadlá, detergenty a na vysušenie.

Rozdelenie herpesvírusov:

Alphaherpesvirinae

Herpes simplex typ 1	HHV 1
Herpes simplex typ 2	HHV 2
Varicella-zoster vírus	HHV 3

Gammaherpesvirinae

Epstein-Barr vírus (EBV)	HHV 4
Vírus Kaposiho sarkómu	HHV 8

Betaherpesvirinae

Cytomegalovírus (CMV)	HHV 5
Herpetický lymfotropný vírus	HHV 6
Ľudský herpesvírus 7	HHV 7

Tabuľka 37. Rozdelenie herpesvírusov

HERPESVÍRUSY	Primárna cieľová bunka	Miesto latencie
Alphaherpesvirinae		
Herpes simplex typ 1 HHV 1	Mukoepitelálne bunky	neurón
Herpes simplex typ 2 HHV 2	Mukoepitelálne bunky	neurón
Varicella-zoster vírus HHV 3	Mukoepitelálne bunky T lymfocyty	neurón
Gammaherpesvirinae		
Epstein-Barr vírus (EBV) HHV 4	B-bunky, epitelové bunky	B lymfocyty
Vírus Kaposiho sarkómu HHV 8	Lymfocyty a iné bunky	B lymfocyty
Betaherpesvirinae		
Cytomegalovírus (CMV) HHV 5	Monocyty, granulocyty, lymfocyty, epitelové bunky	Monocyty, myeloidné kmeňové bunky
Herpetický lymfotropný vírus HHV 6	Lymfocyty	T lymfocyty
Ľudský herpesvírus 7 HHV 7	Lymfocyty	T lymfocyty

Vírus herpes simplex 1 a 2 (HSV 1 a HSV2)

Patogénny potenciál a imunita

Ochorenie sa prenáša priamym kontaktom, HSV 1 sa prenáša orálnou cestou, HSV 2 najmä sexuálnym kontaktom. Prejavy závisia na type postihnutého tkaniva (orálny, genitálny herpes). Vírus vyvoláva priamy cytopatický efekt, šíri sa z bunky do bunky (vytvárajú sa syncíciá), čím uniká pôsobeniu protilátok. Herpesvírusy vyvolávajú latentnú infekciu neurónov, ktorá môže byť reaktivovaná pri imunosupresii alebo pri strese. Za prejavy ochorenia a kontrolu infekcie je zodpovedná bunkami sprostredkovaná imunita.



Obr. 159. Herpes labialis.

<http://heydentist.com/wp-content/uploads/2012/09/Cold-Sores-Herpes-Labialis-3.jpg>

Ochorenia

HSV I je najčastejším herpes vírusom a pôvodcom oparu na perách (**herpes labialis**), HSV II spôsobuje **genitálny herpes**, infekciu v oblasti genitálií a konečníka. Táto sexuálne prenosná choroba je veľmi podobná oparu pery a rovnako ako HSV I sa môže vyskytovať aj na iných častiach tela. **Herpetická faryngitída** je častá u mladých ľudí. Herpetická keratitída môže viesť k zjazveniu a poškodeniu rohovky, až k slepote. **Eczema herpeticum** sa vyskytuje najmä u detí s aktívnymi ekzémami. **Herpetická encefalitída** je najčastejšie spôsobená HSV 1, dochádza pri nej k deštrukcii jedného z temporálnych lalokov, v likvore sú prítomné erytrocyty a pacient trpí neurologickými poruchami. **HSV infekcia u novorodencov** je devastujúca a často smrteľná infekcia vyvolaná HSV 2, prenáša sa počas prechodu infikovanými pôrodnými cestami alebo po narodení od infikovaných zdravotníckych pracovníkov a členov rodiny.

Laboratórna diagnostika a liečba

V priamej diagnostike sa vírus identifikuje na základe typického cytopatického efektu (CPE) - balónovitá degenerácia buniek a tvorba syncícií na HeLa bunkách a na ľudských embryonálnych fibroblastoch. Využíva sa imuno fluorescencia a PCR. Stanovenie protilátok sa v praxi nepoužíva. V liečbe sa používajú inhibítory vírusovej DNA-polymerázy, liečba je účinná pri primárnej a rekurentnej infekcii, nedokážu však eliminovať latentnú infekciu.

Kazuistika

2-ročný chlapec mal dva dni trvajúcu horúčku, odmietal jesť, často plakal. Lekár pri vyšetrení zistil, že na sliznici úst sa nachádzajú početné malé, bledé ulcerácie. Na perách malo dieťa červené vriedky. Príznaky sa počas nasledujúcich piatich dní zhoršovali, na kontrole o dva týždne už vriedky a pľuzgiere neboli prítomné, dieťa sa uzdravilo.

Aký vírus bol pravdepodobne príčinou ochorenia?
Ako je možné tento vírus diagnostikovať?
Ako je možné odlíšiť infekcie vyvolané HSV-1 a HSV-2?
Aké antivírusové prípravky sú dostupné na liečbu infekcií vyvolaných HSV?

Varicella zoster vírus (VZV, HHV 3)

Patogénny potenciál a imunita

Vírus sa prenáša inhalačnou cestou, iníciaľna replikácia prebieha v respiračnom trakte. Vírus infikuje epiteliálne buky, fibroblasty, T-lymfocyty a neuróny, šíri sa z bunky do bunky, vytvárajú sa syncýciá. Virémia je zodpovedná za prenos vírusu do kože, kde sa tvoria charakteristické vyrážky. Pre kontrolu infekcie je dôležitá bunkami sprostredkovaná imunita. V priebehu primárnej infekcie sa VZV dostáva do ganglií sensorických nervov. Vírus zostáva latentný v bunkách dorzálnych koreňových ganglií. Pri oslabení organizmu dochádza k reaktivácii infekcie a k vzniku bolestivého pásového oparu - **herpes zoster**.

Ochorenia

VZV je zodpovedný za **ovčie kiahne**, ktoré patria medzi veľmi časté choroby, ktoré väčšina ľudí prekoná už v detskom veku. Po celom tele sa vyskytujú drobné pľuzgieriky a býva aj zvýšená teplota alebo sa objavujú iné sprievodné prejavy. Po vyliečení kiahní prežíva tento vírus v nervovom tkanive a ak je počas života opäť aktivovaný, vyvoláva **pásový opar**. Ten je charakteristický tvorbou pľuzgierikov prebiehajúcich v pruhoch rovnobežne s rebrami (v priebehu interkostálnych nervov). Vírus VZV môže spôsobiť **meningoencefalitídu** alebo **pneumóniu**, závažné sú infekcie predovšetkým u imunokompromitovaných pacientov.

Laboratórna diagnostika a liečba

Sérologická diagnostika sa dôkaz špecifických IgM a IgG protilátok. IgM protilátky sú detegované za 6 - 7 dní s maximom 14 dní po začiatku infekcie. V diagnostike je možné

využiť metódy priameho dôkazu vírusu z vhodného biologického materiálu (PCR). Ovčie kiahne majú vo väčšine prípadov mierny priebeh a odoznejú spontánne, bez liečby antivírusovými preparátmi.



Obr. 160. Ovčie kiahne – kožné prejavy.

<http://varicellazoster.net/chicken-pox.html>

Epsteinov - Barrovej vírus (EBV)

Charakteristika

EBV patrí medzi herpesvírussy. Pri štúdiu antigénnej štruktúry boli identifikované antigény, ktoré sa využívajú v špecifickej diagnostike:

- včasný antigén (**EA**),
- membránový antigén (**MA**),
- antigeé vírusovej kapsidy (**VCA**),
- povrchový antigén (**LYDMA**),
- nukleárny antigén (**EBNA**)

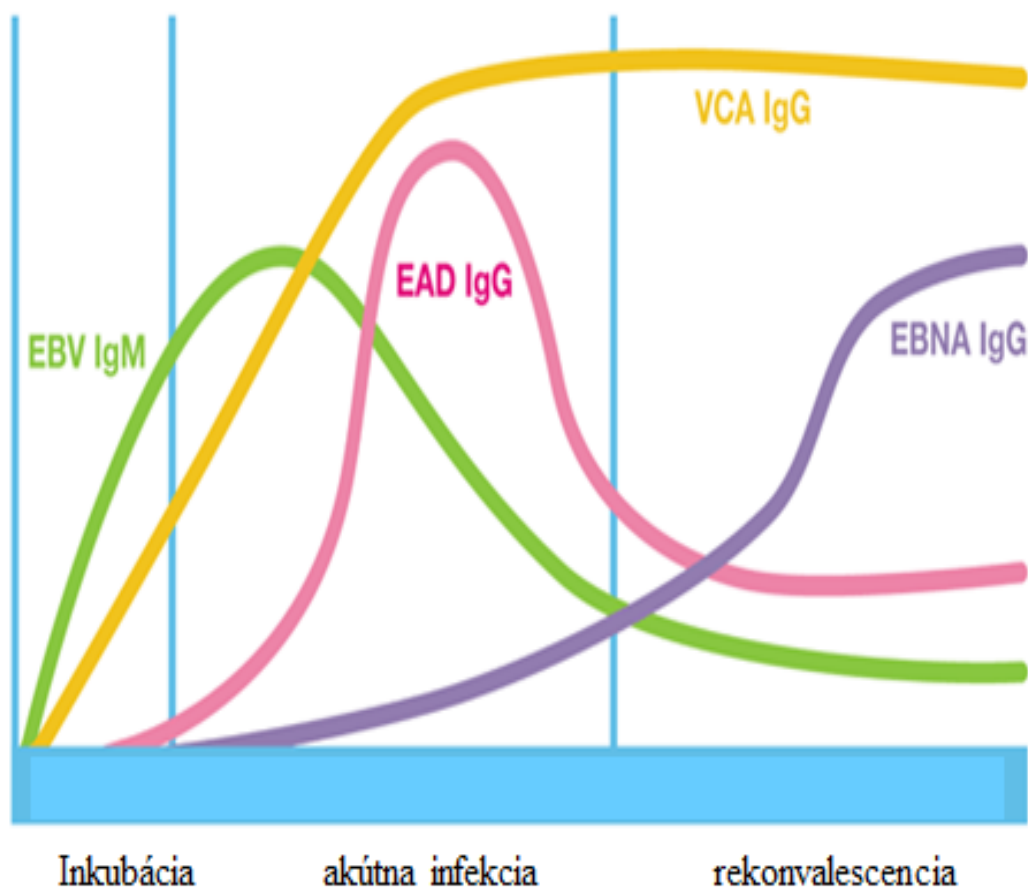
Patogénny potenciál a imunita

Vírus sa prenáša hlavne orálne, zriedkavejší je prenos pohlavným stykom. Vírusové častice infikujú epitelové bunky v hltane alebo pri genitálnom prenose vo vagíne resp. v krčku maternice, kde dochádza k replikácii vírusu a k napadnutiu B-lymfocytov. EBV mení vlastnosti B-lymfocytov, ktoré sa delia a produkujú heterofilné protilátky. Lymfatickými a krvnými cievami sa B-lymfocyty môžu dostať do všetkých orgánov tela. V lymfatických uzlinách, v pečeni, slezine alebo v tonzilách tvoria B-lymfocyty infiltráty.

Laboratórna diagnostika a liečba

Ako skriningová metóda sa v diagnostike infekčnej mononukleózy používa Paulova-Bunnellova reakcia [(dôkaz heterofilných protilátok proti baraním erytrocytom (priama hemaglutinácia)]. Heterofilné protilátky sú prítomné asi u 90 % pacientov s infekčnou mononukleózou. Tieto protilátky nie sú vhodné na diagnostiku infekčnej mononukleózy u detí do 10 rokov, prítomné sú len v 40 - 50 %. Ďalšou skriningovou metódou na dôkaz

infekčnej mononukleózy je IM test [(dôkaz heterofilných protilátok proti konským erytrocytom (priama hemaglutinácia)]. Stanovenie špecifických protilátok proti EBV (metódami ELISA) umožňuje okrem diagnostiky primoinfekcie EBV (infekčná mononukleóza, inaparentná infekcia) tiež posúdiť komplikácie perzistencie EBV v organizme (reaktivácia EBV, chronická EBV viróza). Stanovujeme protilátky proti antigénnemu komplexu (VCA, EA a EBNA-1 súčasne) v triede IgM, IgG. Každý pacient, ktorý prekonal infekciu EBV má protilátky proti VCA. Protilátky proti EBNA sú prítomné u osôb, ktoré boli v minulosti infikované EBV a pretrvávajú celoživotne.



Obr. 161. Infekčná mononukleóza – vývoj protilátkovej odpovede.

<http://www.bio-rad.com/en-us/product/other-serology/epstein-barr-virus-infectious-mononucleosis>

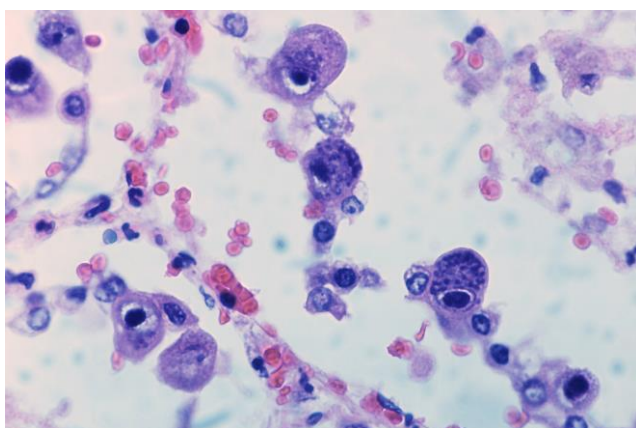
Cytomegalovírus (CMV)

Patogénny potenciál a imunita

Bránou vstupu je respiračný trakt alebo horná časť gastrointestinálneho traktu, dochádza k pomnoženiu a následnému hematogénemu rozsevu vírusu. Vírus perzistuje v bunkách slinnej žľazy, obličkových tubulov a v leukocytoch. Po primárnej infekcii sa CMV dostane do fázy latencie, počas ktorej sa vírus nachádza v B lymfocytoch. Infikovaný jedinec vylučuje vírusy slinami, močom, cervikálnym sekrétom a materským mliekom. Imunitná odpoveď proti CMV zahŕňa syntézu protilátok IgM triedy niekoľko týždňov po infekcii CMV a o týždeň neskôr protilátok triedy IgG.

Ochorenia

V súčasnosti je CMV klinicky najvýznamnejším pôvodcom **oportúnnych infekcií u imunodeficitných pacientov**. CMV infekcia u imunokompetentných osôb prebieha väčšinou **inaparentne**. Primoinfekcie tehotných žien môžu viesť k transplacentárnemu prenosu vírusu na plod. Možná je i perinatálna nákaza novorodenca. Kongenitálna infekcia plodu vzniká najmä pri primárnej infekcii gravidnej ženy, po reinfekcii iným kmeňom CMV počas gravidity, alebo reaktiváciou latentnej infekcie. **Symptomatická kongenitálna infekcia** sa môže manifestovať ako perinatálna sepsa, hepatitída, hepatosplenomegália, lymfocytóza, trombocytopénia, petéchie, pneumónia, alebo chorioretinitída. U pacientov po ransplantácii sa infekcia prejaví ako horúčka, nechutenstvo a malátnosť bez ďalších symptómov. Môže sa vyskytnúť myalgia, artralgia a artritída, alebo **syndróm podobný infekčnej mononukleóze**, sprevádzaný lymfadenopatiou prípadne splenomegáliou.



Obr. 162. Infekcia CMV – bazofilné jadrové inklúzie s peri-nukleárnym halo a granulárne bazofilné cytoplazmatické inklúzie.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/23/Cytomegalovirus_infection.jpg

Laboratórna diagnostika a liečba

Nepriama diagnostika sa opiera predovšetkým o stanovenie špecifických protilátok triedy IgM a IgG. Určenie primárnej infekcie sa zakladá na dôkaze sérokonverzie alebo na signifikantnom zvýšení hladiny IgG protilátok a na detekcii protilátok triedy IgM. Hladiny protilátok triedy IgM proti CMV sa obvykle zvyšujú počas niekoľkých týždňov a potom sa pomaly znižujú v priebehu 4 až 6 mesiacov. Výnimočne môže IgM cirkulovať v tele roky. Testovanie protilátok triedy IgM je dôležité v diagnostike akútnej CMV infekcie, ktorá je zložitá a nedá sa vykonať len na základe klinických príznakov. Nie vždy je možné rozlíšiť primárnu a sekundárnu infekciu, pretože reaktivácia môže indukovať syntézu IgM u imunokompromitovaných pacientov. Pozitívny výsledok indikuje čerstvú aktívnu infekciu (do 8 mesiacov pred testom) alebo sekundárnu infekciu (reaktiváciu). Negatívny výsledok však nevylučuje vždy akútnu CMV infekciu, pretože infekcia môže byť vo veľmi skorej fáze. Priama diagnostika sa opiera o dôkaz DNA vírusu metódami PCR, vždy v súvislosti s klinickým stavom pacienta. Na liečbu u pacientov s oslabeným imunitným systémom, ktorí majú problémy v dôsledku infikovania CMV sa používajú antivírusové preparáty Ganciclovir (Cytovene) a foscarnet.

Kazuistika

17-ročný študent strednej školy mal horúčku, bol unavený, sťažoval sa na bolesti hrdla. Príznaky trvali niekoľko dní, bola zistená aj krčná lymfadenopatia, lymfatické uzliny boli zdurené. Príznaky celkovej únavy sa zhoršovali, pacient udával pocit diskomfortu v pravom hornom brušnom kvadrante. V priebehu ďalších dvoch týždňov príznaky postupne vymizli, až na únavu, ktorá pretrvávala ešte ďalších šesť týždňov.

Ktoré laboratórne testy by mohli potvrdiť infekciu vyvolanú EBV a odlíšiť ju od ochornia vyvolaného CMV?
Ktoré z opísaných príznakov sú typické pre infekčnú mononukleózu?
Čím je zapríčinené zväčšenie lymfatických uzlín a zvýšená únava?
Ktorí ľudia majú zvýšené riziko vzniku infekcie vyvolanej EBV?

HHV 6 a HHV 7

Patogénny potenciál a imunita

Tieto betaherpesvírussy patria do rodu *Roseolovirus*, HHV 6 je lymfotropný, boli izolované od pacientov s AIDS. Vírussy sa prenášajú slinami, HHV 6 primárne infikuje lymfocyty, hlavne CD4 T lymfocyty, vyvíja sa latentná infekcia lymfocytov a monocytov. Replikácia je kontrolovaná bunkovou imunitou.

Ochorenia

HHV 6 a HHV 7 vyvolávajú ochorenie v detskom veku známe ako roseola alebo exanthema subitum, prípadne roseola infantum či šiesta choroba. U dieťaťa sa náhle objavuje horúčka trvajúca až sedem dní. Vysoká horúčka často náhle končí a približne v rovnakom čase sa objavia ružovo-červené ploché alebo vyvýšené vyrážky na trupe a šíria sa po celom tele. Môže sa objaviť zdurenie krčných lymfatických uzlín a laryngitída.



Obr. 149. Exanthema subitum.

<http://www.huidziekten.nl/afbeeldingen/exanthema-subitum-2.jpg>

Laboratórna diagnostika a liečba

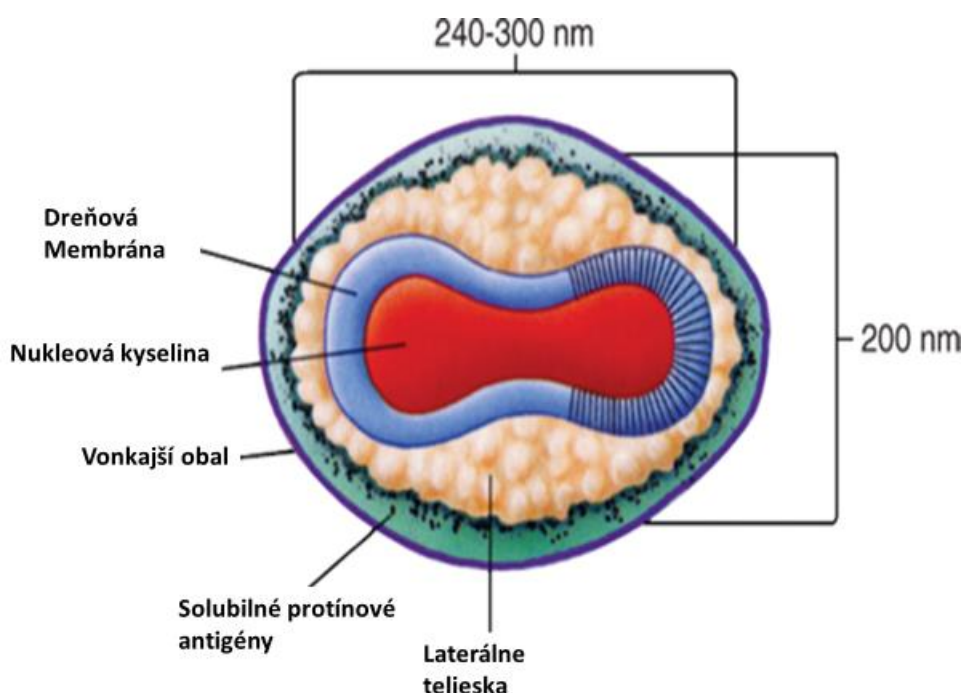
Diagnóza sa stanovuje spravidla na základe klinického priebehu, v sporných situáciách (hlavne pri nutnosti odlíšenia možnej alergickej vyrážky) je možné vyšetrenie protilátok proti obom vírusom. Roseola zvyčajne nevyžaduje medikamentóznú liečbu

Poxvírusy

Hlavnými patogénmi z tejto skupiny sú vírus varioly (*Orthopoxvirus*), vírus moluscum contagiosum (*Molluscipoxvirus*) a vírus vakcínie, laboratórne alterovaný poxvírus, ktorý bol použitý ako vektor pri produkcii živých rekombinantných hybridných vakcín.

Charakteristika

Poxvírusy sú najväčšie vírusy, môžu byť viditeľné vo svetelnom mikroskope. Sú obalené, majú dvojvláknovú lineárnu DNA. Replikácia poxvírusov je medzi DNA vírusmi unikátna, cyklus začína v cytoplazme hostiteľskej bunky, preto musia vírusové častice kódovať enzýmy pre syntézu mRNA a DNA (ostatné vírusy využívajú hostiteľské enzýmy). K pospájaniu vírusových častíc dochádza v inklúzných telieskach (Guarnieriho telieska), kde získava obal.



Obr. 163. Poxvírus – štruktúra.

<https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2268§ionid=176083095>

Patogénny potenciál a imunita

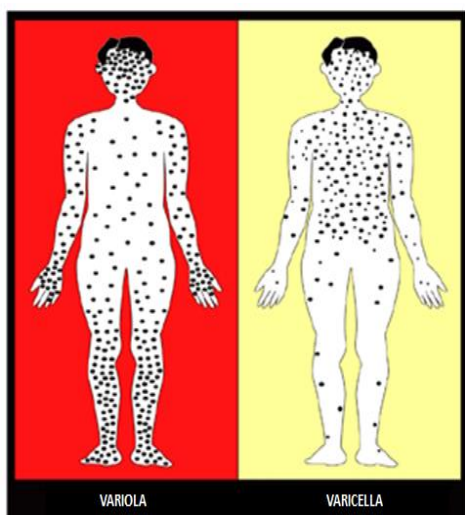
Vírus varioly vstupuje do tela inhalačnou cestou, replikuje sa v horných dýchacích cestách, diseminuje do lymfatického a krvného systému. Poškodenie vnútorných orgánov a kože je vyvolané sekundárnou virémiou, ktorá je oveľa intenzívnejšia. Vírus

molluscum contagiosum a ostatné poxvírusy sa prenášajú priamym kontaktom. Poxvírusy majú mechanizmy, ktoré im umožňujú uniknúť imunitnej kontrole (širia sa z bunky do bunky a unikajú tak protilátkam, blokujú účinok interferónu, komplementu a zápalových odpovedí). Podstatnú úlohu zohráva bunkami sprostredkovaná imunita.

Ochorenia

Variola patrí medzi eradikované ochorenia, existovala v dvoch formách – variola major (mortalita 15% - 40%) a variola minor (mortalita 1%). Ochorenie je charakterizované horúčkou, bolesťami hlavy a chrbta a tvorbou vírus obsahujúcich vezikúl a pustúl na koži. Vyrážka má centrifugálny charakter objavuje sa najprv v oblasti tváre, ramien a hrudníka a až neskôr sa šíri na končatiny). Dochádza k postihnutiu vnútorných orgánov, najmä pečene, sleziny a pľúc.

Vakcína je vírus, ktorý sa používa na očkovanie proti kiahnam. Vírus vakcínie vyvoláva komplikácie po očkovaní – encefalitídu a progresívnu infekciu vaccinia necrosum, tieto ochorenia sú zriedkavé, popisované hlavne u členov rodiny imunizovaných vojakov.



Obr. 164. Charakteristická distribúcia vyrážky pri variole a varicelle.

<http://www.bt.cdc.gov/agent/smallpox/images/smpxman1.gif>

Molluscum contagiosum

Infekcia sa prejavuje tvorbou kožných lézií, ktoré sa líšia od prejavov pri variole. Ide o papuly s centrálnym kazeóznym čapom, ktorý je možné vytlačiť. Najčastejšie sa vyskytujú v oblasti trupu, okolo genitálií a na horných končatinách, vytvárajú zhľuky obsahujúce 5 -20 papúl.



Obr. 165. Molluscum contagiosum.

<http://www.alphaderm.ca/clinical-molluscum-contagiosum.asp>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika varioly bola založená na klinickom obraze, vírus bolo možné izolovať na kuracích embryách alebo na bunkových kultúrach. Identifikácia molluscum contagiosum sa robí histologicky, typická je prítomnosť veľkých eozinofilných cytoplazmatických inklúzií v epitelových bunkách. Liečba molluscum contagiosum obvykle nie je potrebná, lézie vymiznú spontánne za 2 -12 mesiacov .

Kazuistika

Centrum pre kontrolu chorôb opísalo nasledujúci prípad z Aljašky: 42-ročná žena sa sťažovala na bolesti vo vaginálnej oblasti, ktoré trvali 10 dní, horúčku nemala, neudávala žiadne bolesti pri močení ani svrbenie. Pri vyšetrení sa zistili vo vagíne dva vredy, začervenanie sliznice a vaginálny výtok. Nebola zistená inguinálna lymfadenopatia. Ženin partner, vojak, bol očkovaný proti kiahňam pred dvoma týždňami. Vo vzorkách odobratých z vaginálnych lézií bol identifikovaný vakcinačný kmeň vírusu vakcínie.

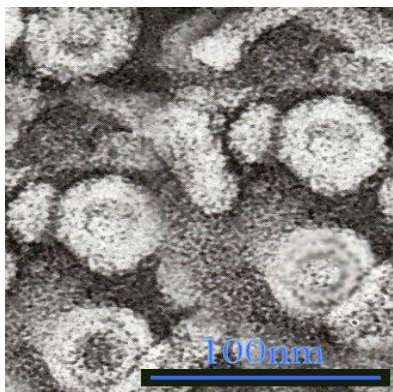
Charakterizujte vírus vakcínie.
Aké ochorenia môže vyvolať vírus vakcínie.

Hepadnavírusy

Skupina obalených vírusov s dvojvláknovou DNA, najznámejším vírusom je vírus hepatitídy B (VHB), ktorý patrí do rodu *Orthohepadnavirus*.

Charakteristika

VHB je malý obalený DNA vírus, obsahuje cirkulárnu, čiastočne dvojvláknovú DNA, kóduje enzým reverznú transkriptázu. Virión sa označuje ako Daneova častica, je stabilný voči éteru, nízkemu pH, zmrazeniu a miernemu zahriatiu.



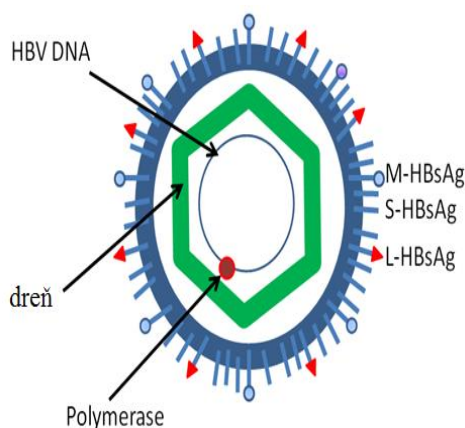
Obr. 166. Vírus hepatitídy B.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/36/Hepatitis_B_virus_1.jpg

Antigénna štruktúra

Obal viriónu tvorí povrchový antigén (HBsAg), pôvodne označovaný ako Austrálsky antigén, ktorý obsahuje tri rôzne vírusové glykoproteíny (S, M, L glykoproteíny). Glykoproteíny HBs antigénu obsahujú skupinovo špecifickú determinantu (označuje sa ako „a“) a typovo špecifické determinanty, označované písmenami d, y, w, r. Kombináciou týchto antigénov je z epidemiologického hľadiska možné rozlíšiť osem subtypov VHB.

Antigén kapsidy, HBcAg, je lokalizovaný výhradne v cytoplazme infikovaných buniek. Má tendenciu vytvárať štruktúry s kubickou symetriou aj bez prítomnosti nukleoproteínov, preto v priebehu replikácie VHB vznikajú aj početné prázdne kapsidy. HBe antigén (HBeAg) je solubilný glykoproteín, kódovaný rovnakým génom ako HBcAg. Prítomnosť HBeAg v sére pacienta je znakom aktivity infekčného procesu.



Obr. 167. Antigénna štruktúra VHB.

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/78/HBV.png>

Patogénny potenciál a imunita

VHB sa prenáša najmä krvou, môže však byť prítomný v slinách, v mlieku, v amniovej tekutine, v semene alebo vo vaginálnych sekrétoch. Vírus sa replikuje v hepatocytoch s minimálnym cytopatickým efektom a s relatívne dlhým obdobím bez známk poškodenia pečene alebo iných príznakov. V tomto období sa kópie genómu VHB integrujú do chromatinu hepatocytov a zostávajú latentné. Za symptomatológiu ochorenia je zodpovedná imunita sprostredkovaná bunkami a zápalová reakcia.

Interferón indukuje imunitnú odpoveď najmä prostredníctvom expresie MHC a následnej prezentácie peptidov z HBc, Hbs a HBe antigénov cytotoxickým T-lymfocytov.

Ochorenia

VHB vyvoláva akútnu alebo chronickú, perzistujúcu infekciu pečene, ktorá môže viesť k rozvoju cirhózy lebo rakoviny pečene a zapríčiniť tak smrť pacienta. Pacienti s chronickou infekciou sú rezervoárom vírusu. Akútna hepatitída je charakterizovaná dlhým inkubačným časom (45-120 dní). Prodromálne symptómy sú horúčka, únava, nechutenstvo, postupne sa vyvíja nauzea, vracanie a abdominálny diskomfort. Prítomné sú klasické príznaky poškodenia pečene (ikterus, tmavý moč, bledá stolica). Približne u 1% sa prejaví fulminantná hepatitída s vážnym poškodením pečene, ascitom a krvácaním, táto forma vedie k smrti pacienta. Chronická infekcia sa vyvíja približne u 5%-10% infikovaných pacientov, môže viesť k rozvoju cirhózy a k zlyhaniu pečene. Pacienti s chronickou hepatitídou typu B sú vo vysokom riziku vzniku fulminantnej infekcie vyvolanej koinfekciou s vírusom hepatitídy D* (VDH). Podľa svetovej zdravotníckej organizácie, až 80% pacientov s primárnym hepatocelulárnym karcinómom má potvrdenú chronickú hepatitídu B.

Tabuľka 38. Vírus hepatitídy B – epidemiológia.

VÍRUS HEPATITÍDY B	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - obalený DNA vírus - citlivý na vysušenie - vylučuje sa počas asymptomatického obdobia - môže vyvolať chronickú infekciu
Prenos	<ul style="list-style-type: none"> - krvou - vaginálnym sekrétom a semenom - sliny - materské mlieko - transfúziou krvi - infikovanými ihlami
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - osoby s endemických oblastí (Čína, časti Afriky, Aljaška, Tichomorské ostrovy) - deti matiek s chronickou hepatitídou B - užívatelia intravenózne podávaných drog - promiskuitné osoby - pacienti vyžadujúci transfúziu krvi, liečbu krvnými produktami - zdravotnícki pracovníci - hemodialyzovaní pacienti - pacienti s transplantovanými orgánmi
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - vyskytuje sa celosvetovo - nie je typická sezónna incidencia
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none"> - vylúčenie rizikového správania - vakcinácia - skrínig, kontrola krvných náhrad

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnóza sa stanovuje na základe anamnézy, fyzikálneho nálezu a laboratórnych vyšetrení. Laboratórny dôkaz infekcie HBV sa opiera o vyšetrenia biochemické, hematologické, sérologické a molekulárno-biologické. Biochemické testy poukazujú na zvýšenú aktivitu pečenevých enzýmov – transamináz, zvýšený bilirubín v krvi ako aj prítomnosť bilirubínu v moči. Pre potvrdenie diagnózy hepatitídy B sa využíva viacero markerov (ukazovateľov):

- **HBsAg** - je povrchový antigén vírusu, ktorého prítomnosť indikuje nastupujúcu infekciu alebo chronické nosičstvo.

- **anti-HBs** - sú protilátky proti HBsAg, ktoré sa obvyčajne objavujú po vymiznutí HBsAg z krvi, obvykle asi 6 mesiacov po infekcii, ale ich detekcia nepostačuje ako jediný ukazovateľ na potvrdenie prekonanej infekcie.

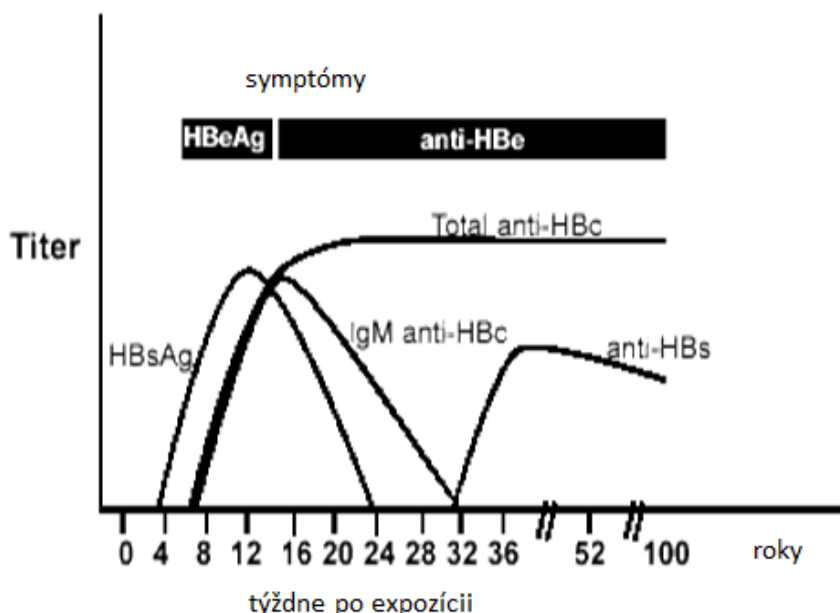
- **anti-HBc** - sú protilátky proti antigénu jadra vírusu a objavujú sa krátko po HBsAg a dosahujú maximum počas akútnej fázy pred nástupom anti-HBs. Môžu byť dvojakeho typu:

- a) **anti-HBc IgM** – tzv. včasné protilátky, ktoré sa detekujú počas akútnej infekcie a vymiznú po jej odoznení

- b) **anti-HBc IgG** – tzv. pamäťové protilátky, ktoré pretrvávajú v sére roky

- **HBeAg** - antigén vírusu hepatitídy B niekedy prítomný v krvi počas akútnej infekcie, potom zvyčajne vymizne, ale niekedy pretrváva počas chronického ochorenia. Slúži na stanovenie štádia infekcie.

- **anti-HBe** - protilátky objavujú prechodne počas rekonvalescencie, nechráni proti opakovanej infekcii, slúžia na stanovenie štádia infekcie.



Obr. 168. Vývoj protilátkovej odpovede po infekcii vírusom hepatitídy B.

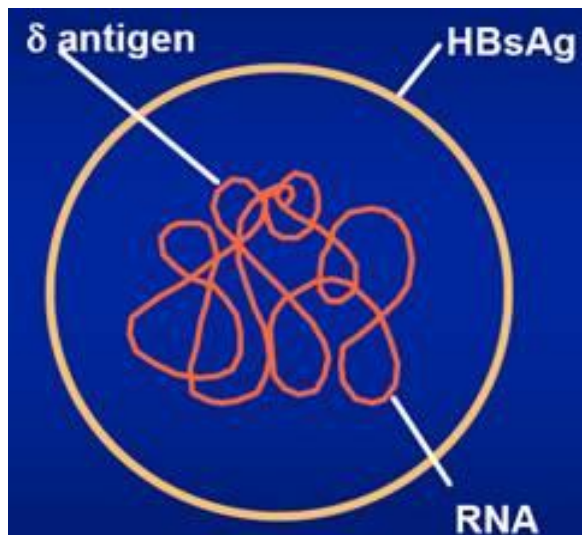
<http://www.thebody.com/content/art12963.html>

Na vyšetrenie sa používa metóda ELISA a chemiluminiscenčná metóda. Na zaradenie pacienta do terapie a sledovanie účinnosti liečby sa využíva kvantitatívny test PCR, ktorý vypovedá o tom, koľko kópií vírusu je v 1 ml krvi. Liečba akútnej hepatitídy B je len symptomatická - má podporný charakter. Dôležitá je diéta, pokoj, obmedzenie fyzickej námahy, zákaz konzumácie alkoholu. Súčasťou liečby sú aj vitamíny a rôzne výťažky z bylín a rastlín na ochranu a podporu pečene (hepatoprotektíva). V liečbe chronickej hepatitídy B sa používajú dve stratégie, ktorých cieľom je čo najviac potlačiť množenie vírusu a dosiahnuť tým spomalenie alebo úplné zastavenie vývoja choroby smerom k cirhóze a zlyhaniu pečene. **Interferóny** - patria medzi bielkoviny, ktoré sa prirodzene tvoria v bunkách, pôsobia proti zápalom a vírusovým infekciám a zohrávajú úlohu v prirodzenom ochrannom mechanizme imunitného systému. **Virostatiká** – protivírusové lieky, ktoré obmedzujú množenie vírusu v bunke tým, že blokujú niektorý vírusový enzým. Na liečbu sa používa B imúnny globulín (u novorodencov narodených matkám s HBsAg pozitivitou), chronické infekcie sa liečia antivirotikami inhibujúcimi polymerázu vírusu (lamivudine) alebo inhibítormi transkriptázy (adefovir dipivoxil, famciklovir - počas jedného roka).

* **Vírus hepatitídy D (VHD)** je defektný, výhradne ľudský RNA vírus, ktorý vyvoláva u osôb infikovaných VHB ťažké hepatitídy s fulminantným priebehom.

Charakteristika VHD

Označuje sa ako delta antigén – neúplný vírus – schopný replikácie v bunke súčasne infikovanej VHB.



Obr. 169. Štruktúra vírusu hepatitídy D.

<http://www.stanford.edu/group/virus/delta/2004hammon/Molecular%20Biology.htm>

Patogénny potenciál a imunita

Infekcia delta antigénom je v súvislosti s infekciou VHB možná ako

- koinfekcia – súčasná infekcia VHB a delta antigénom
- superinfekcia – infekcia delta antigénom buniek s aktívnou infekciou (akútnou alebo chronickou) VHB

Laboratórna diagnostika a liečba

Sérologický dôkaz delta antigénu a súčasný dôkaz aktívnej infekcie VHB – HbsAg, HBeAg. Terapia podobne ako pri infekcii VHB. Prevencia infekcie VHB je súčasne prevenciou koinfekcie delta antigénom. Prevencia superinfekcie nie je možná.

Kazuistika

Hein J. Boot a kol. opísali v roku 2008 prípad akútnej infekcie vírusom hepatitídy B u pacienta, ktorý dostal päť dávok vakcíny proti hepatitíde B. Počiatočná odpoveď pacienta na očkovanie bola pomerne slabá, napokon však boli u pacienta dosiahnuté dostatočné hladiny protilátok proti povrchovému antigénu (anti-HBs) ako odpoveď na booster dávku rekombinantnej DNA vakcíny. Po 14 rokoch od vakcinácie pacient dostal akútnu hepatitídu vyvolanú vírusom hepatitídy B. Analýzou sa zistilo, že ide o vírus HBV bežne cirkulujúci v populácii homosexuálnych mužov. Išlo o prvý zdokumentovaný prípad zlyhania vakcinácie u osoby, ktorá mala po podaní rekombinantnej DNA vakcíny proti VHB vysoké hladiny anti-HBs protilátok.

Aká je antigénna štruktúra VHB?

Pre ktoré skupiny ľudí platí zvýšené riziko infekcie vírusom hepatitídy B?

Aké sú možnosti prevencie tohto ochorenia u rizikových skupín?

OTÁZKY

1. Kde prebieha replikácia genómu herpesvírusov?
2. Aké sú charakteristické vlastnosti herpesvírusov?
3. Ako sú rozdelené herpesvírusy?
4. Aké ochorenia vyvoláva herpes simplex vírus a ako sa tieto ochorenia diagnostikujú?
5. Ako sa prenáša vírus VZV?
6. Aká je patogenéza infekcie vyvolanej EBV?
7. Aké infekcie vyvoláva EBV?
8. Ako sa diagnostikuje infekčná mononukleóza?
9. Aké sú klinické prejavy infekcie vyvolanej CMV?
10. Aké infekcie vyvolávajú vírusy HHV6 a HHV7?
11. Aká je klinická manifestácia varioly?
12. Charakterizujte molluscum contagiosum.
13. Aké sú charakteristické vlastnosti vírusu hepatitídy B?
14. Ako sa prenáša hepatitída B?
15. Aká je antigénna štruktúra VHB?
16. Aká je patogenéza hepatitídy B?
17. Ako sa klinicky prejavuje hepatitída B?
18. Aká je protilátková odpoveď v priebehu infekcie VHB?
19. Ako sa diagnostikuje a lieči hepatitída B?
20. Charakterizujte vírus hepatitídy D.

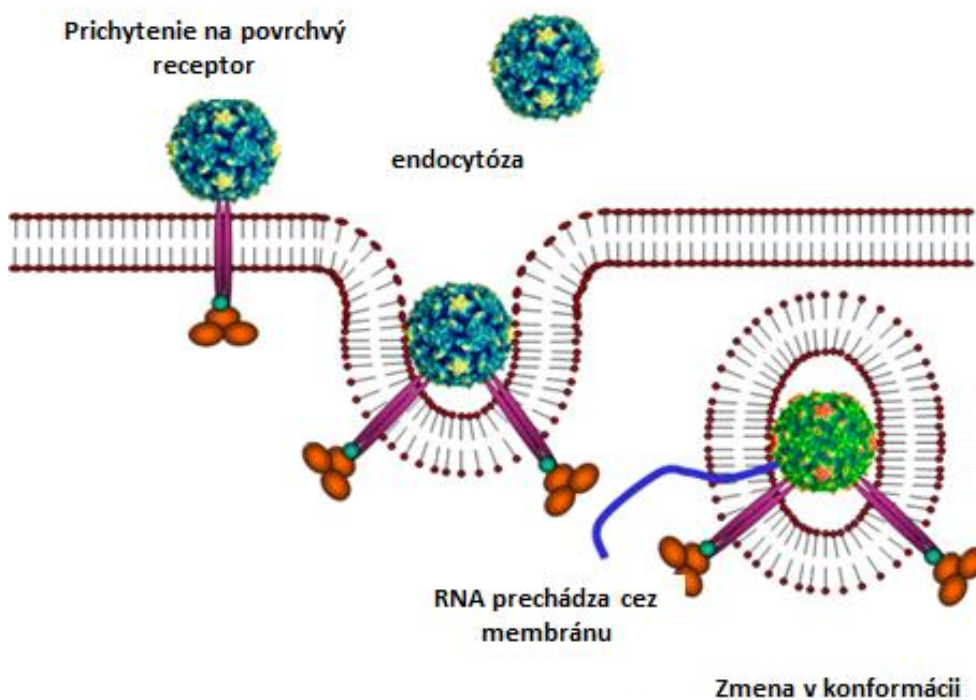
2.2 RNA vírusy

2.2.1 Neobalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou

Pikornavírusy

Charakteristika

Pikornavírusy sú najmenšie RNA vírusy. Nukleokapsida picornavírusov má ikosaedrálnu symetriu, vírusy sú odolné voči zahriatiu a detergentom, odolávajú kyslému prostrediu (okrem rhinovírusov). V hostiteľských bunkách inhibujú proteosyntézu. Rôzne sérotypy picornavírusov sa viažu na rôzne receptory (napr. ICAM-1 – intracellular adhesion molecule-1 na epitelových bunkách, fibroblastoch a na endotelových bunkách). Prejavy ochorení sú vyvolané skôr aktivitou vírusov ako imunitnými mechanizmami hostiteľa. Do tejto skupiny vírusov patria rody: *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *Hepatovirus*, *Cardiovirus*, *Aphthovirus*, *Parechovirus*. Ochorenia u ľudí vyvolávajú najčastejšie rody *Enterovirus*, *Rhinovirus* a *Hepatovirus*.



Obr. 170. Picornavírusy – prichytenie a vstup do bunky.

<http://pathmicro.med.sc.edu/virol/pol12.gif>

Enterovírusy

Enterovírusy sú pomenované podľa ich schopnosti množiť sa v čreve. Medzi enterovírusy zaraďujeme poliovírusy (typ 1-3), coxsackie vírusy A (23 typov), coxsackie vírusy B (6 typov), echovírusy (31 typov).

*Vírus hepatitídy A je v súčasnosti zaradený do samostatného rodu *Hepatovirus*.

Patogénny potenciál a imunita

Enterovírusy vstupujú do organizmu cez horné dýchacie cesty, orofaryng alebo cez gastrointestinálny trakt. Replikujú sa v bunkách sliznice, v lymfatickom tkanive tonzíl a faryngu, neskôr infikujú Peyerove plaky v čreve. Vylučujú sa stolicou. Nasleduje primárna virémia, počas ktorej sa šíria do cieľových tkanív, kde dochádza k druhej fáze replikácie. V tejto fáze sa vyvíjajú symptómy ochorenia a sekundárna virémia. Enterovírusy môžu postihnúť rôzne tkanivá a orgány (kožu, svaly, mozog, mozgové obaly, pečeň, srdce a iné).

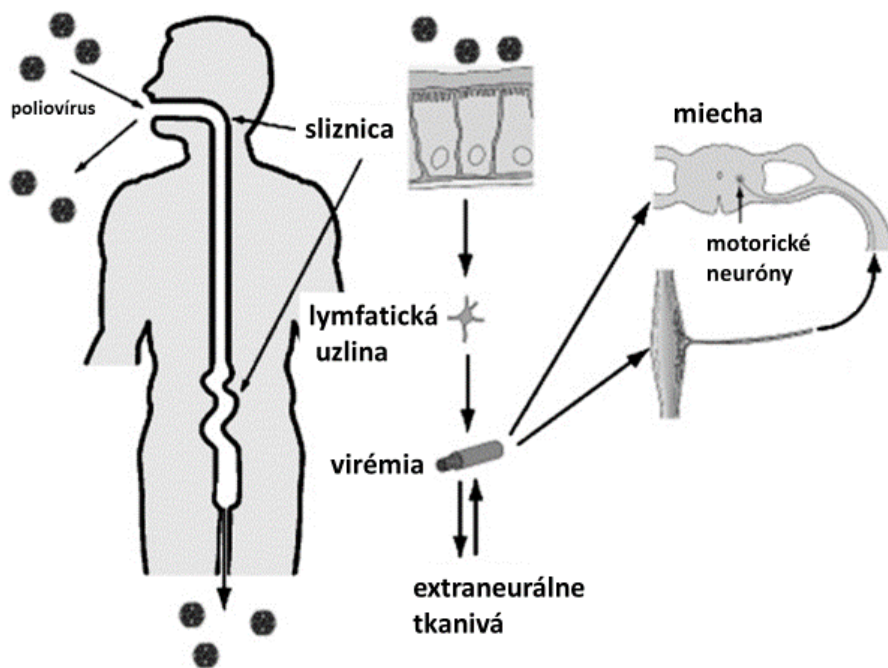
Tabuľka 39. Enterovírusy – epidemiológia.

ENTEROVÍRUSY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none">- ochorenia korelujú s typom enterovírusu a s vekom pacienta- časté sú asymptomatické infekcie s vylučovaním vírusu- odolné voči detergentom, kyslému prostrediu, vysušeniu, zahriatiu
Prenos	<ul style="list-style-type: none">- fekálno- orálny prenos: v súvislosti s nedostatočnou hygienou- požitie kontaminovanej potravy a vody- priamy kontakt s kontaminovanými predmetmi- prenos rukami- inhalácia infekčných kvapôčiek
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none">- deti, dospelí (poliomyelitis)- novorodenci (Coxackie, enterovírusy)
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none">- vyskytuje sa celosvetovo- častejší výskyt v letných mesiacoch
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none">- vakcinácia (poliomyelitis)- dostatočná hygiena

Ochorenia

Poliovírusy

Vyvolávajú **detskú obrnu (poliomyelitis anterior acuta)**. **Asymptomatické ochorenia** sú prítomné asi u 90% infikovaných osôb, vírus je prítomný len v orofaryngu a v čreve. **Abortívna poliomyelitída** je nešpecifické febrilné ochorenie sprevádzané bolesťami hlavy, bolesťami hrdla a vracaním. Pri **neparalytickej poliomyelitíde** (aseptická meningitída), ktorá vzniká pri šírení vírusu do CNS a do mozgových obalov, sa k príznakom ochorenia pridávajú bolesti chrbta a svalové spazmy. Najzávažnejšou formou infekcie je **paralytická poliomyelitída** (vyvíja sa u 0,1% - 2% infikovaných), kedy sa vírus šíri z krvi do predných rohov miechy a do motorických centier v mozgovej kôre. Ochorenie je charakterizované asymetrickou chabou paralýzou bez straty senzorického vnímania. Vážnejšou formou je **bulbárna poliomyelitída**, ktorá postihuje svaly faryngu, hlasoviek a dýchacie svaly, až 75% pacientov s týmto typom ochorenia umiera. **Post-polio syndróm** sa vyvíja asi po 30-40 rokoch od infekcie, pacienti trpia degeneráciou primárne postihnutých svalov. Predpokladá sa, že tento stav je zapríčinený stratou neurónov v primárne poškodených nervoch.



Obr. 171. Vývoj infekcie vyvolanej poliovírusmi – schéma.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682205005830#fig1>

Coxackie vírusy

Coxackie vírusy vyvolávajú rôzne klinické príznaky, obvykle však nedochádza k paralytickým formám infekcie. Coxackie vírusy A aj B vyvolávajú tzv. letnú chrípku s krátko trvajúcou horúčkou, ďalej katary horných dýchacích ciest alebo pneumónie. Coxackie vírusy A vyvolávajú **heparangínu**, samolimitujúce ochorenie s horúčkou, bolesťami hrdla, vracaním a s tvorbou vezikulárnych ulcerovaných lézií na mäkkom podnebí a na uvule. **„Hand-foot-and mouth“ (ruka, noha, ústa)** chorobu vyvoláva Coxackievírus A16, prejavuje sa tvorbou vezikulárnych lézií na rukách, chodidlách, ústach a na jazyku.



Obr. 172. „Hand-foot-and mouth“ choroba.

<http://www.intelligentdental.com/wp-content/uploads/2009/11/HFMD-1.jpg>

Coxackie vírusy B vyvolávajú **pleurodýniu (Bornholmskú chorobu)** s jednostrannou bolesťou hrudníka a s horúčkou. Toto ochorenie trvá v priemere štyri dni, môže však dochádzať k relapsom po niekoľkodňovej asymptomatickej fáze. Coxackie vírusy B sú zodpovedné aj za **myokarditídu, perikarditídu** a sú príčinou nebezpečných **infekcií novorodencov** s príznakmi encefalopatie a pankarditídy. Predpokladá sa, že infekcia pankreasu coxackie vírusmi B vyvoláva inzulín dependentný diabetes mellitus, pretože vírus deštruuje bunky Langerhansových ostrovčiek. Enterovírus E 70 a coxackievírus A24 vyvolávajú extrémne nákazlivú infekciu oka – **akútnu hemoragickú konjunktivitídu**.

Echovírusy

Echovírusy (z angl. **Enteric Cytopathic Human Orphan virus**) sú enterovírusy, ktoré vyvolávajú infekcie v zažívacom trakte a v iných orgánoch. Do organizmu vstupujú cez nazofaryng, kde sa replikujú, vstupujú do regionálnych lymfatických uzlín a odtiaľ do cieľových orgánov. Môžu infikovať aj centrálny nervový systém, pečeň, slezinu, kostnú dreň, srdce a pľúca. Tieto vírusy infikujú často mužskú populáciu a deti, infekcia sa najčastejšie prejavuje ako mierne ochorenie s nešpecifickými príznakmi a s miernym vzostupom teploty. Môže byť prítomná vyrážka, ktorá sa šíri z oblasti tváre na krk, horné končatiny a hrudník. Infekcia v prvých dvoch týždňoch po narodení je veľmi závažná, môže viesť k smrti (zlyhanie pečene, myokarditída). U dospelých je najčastejšou komplikáciou infekcie myokarditída.

Laboratórna diagnostika a liečba

Enterovírusy je možné izolovať zo stolice, miechy, mozgu, likvoru, faryngeálneho výplachu, krvi, srdca, zo spojovky alebo z kožných lézií. Na identifikáciu enterovírusov sa v praxi používajú testy ELISA s typovo-špecifickými antisérmi, imunoelektrónová mikroskopia s polyvalentnými a typovo-špecifickými antisérmi, alebo včasná detekcia enterovírusových antigénov v bunkových kultúrach pomocou nepriamej imunofluorescencie. Sérologická identifikácia sa opiera predovšetkým o detekciu špecifických IgM alebo o štvornásobný vzostup titra protilátok. Špecifická terapia enterovírusových infekcií nie je dostupná. Podporná terapia je extrémne dôležitá u pacientov s paralytickými formami infekcie (železné pľúca u pacientov s bulbárnou poliomyelitídou). V prevencii paralytickej poliomyelitídy sú dostupné dva typy vakcín, inaktivovaná a živá atenuovaná orálna vakcína. U imunokompromitovaných pacientov je vyššie riziko vzniku paralytickej poliomyelitídy asociovanej s vakcináciou.

Kazuistika

Do nemocnice bolo prijaté 4-ročné dievča s bolesťami brucha, nebola schopná močiť, nemohla chodiť. Pri vyšetrení bola zistená neprítomnosť brušných reflexov, dysfunkcia rekta a močového mechúra. Teplota bola normálna. V likvore nebola zistená prítomnosť baktérií, bol zvýšený počet buniek (95% neutrofilov, 5% lymfocytov). Serologické vyšetrenia na vírus poliomyelitídy a ECHO vírusy boli negatívne. Počas akútnej fázy sa zistili protilátky proti Coxackie vírusu A10 (titer =32), po štyroch týždňoch bol titer =128. Tri týždne po prijatí bolo dieťa opäť schopné chodiť, ale mierna dysfunkcia rekta a močového mechúra pretrvávala ešte tri mesiace.

Aké ochorenia vyvolávajú Coxackie vírusy?
Aký je vývoj infekcie vyvolanej poliovírusmi?
Aké infekcie vyvolávajú ECHO vírusy?

Rhinovírusy

Rinovírusy patria medzi najčastejších vyvolávateľov nádchy. Doteraz bolo identifikovaných najmenej 100 rôznych sérotypov rinovírusov, viac ako 80% z nich využíva rovnaké receptory ako coxackie vírusy (ICAM-1). Rhinovírusy sa nereplikujú v gastrointestinálnom trakte, sú labilné v kyslom prostredí, najlepšie sa množia pri teplote 33° C.

Tabuľka 40. Rhinovírusy – epidemiológia.

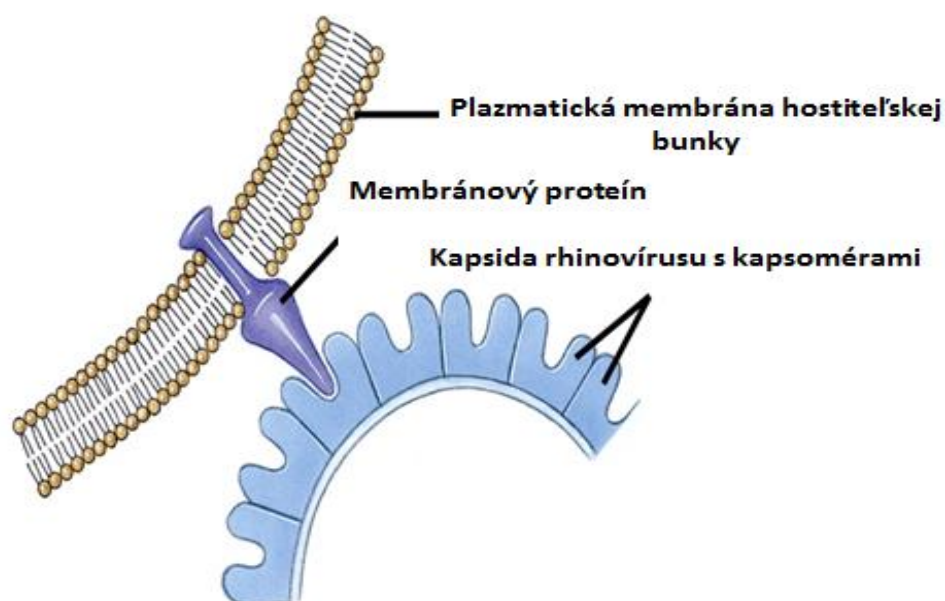
RhINOVÍRUSY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none">- mnoho sérotypov- optimálna teplota pre replikáciu je 33°C alebo nižšia- odolné voči detergentom, vysušeniu
Prenos	<ul style="list-style-type: none">- inhalácia infekčných kvapôčiek- priamy kontakt s kontaminovanými predmetmi- prenos rukami
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none">- všetky vekové skupiny
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none">- vyskytuje sa celosvetovo- častejší výskyt na jar a jeseň
Možnosti kontroly/prevenie	<ul style="list-style-type: none">- dostatočná hygiena- umývanie rúk- dezinfekcia kontaminovaných predmetov

Patogénny potenciál a imunita

Vírusy vstupujú do tela cez nos, ústa alebo oči, replikujú sa v horných dýchacích cestách. Infikované bunky uvoľňujú bradykinín a histamín, postihnutá sliznica je edematózna. Primárna infekcia indukuje produkciu sekrečných IgA a sérových IgG protilátok. Interferón je zodpovedný jednak za limitáciu infekcie ale aj za príznaky ochorenia. Bunková imunita nehrá dôležitú úlohu.

Ochorenia

Infekcia sa prejavuje ako nádcha, niekedy sprevádzaná miernou bolesťou hrdla, bolesťami hlavy a únavou.



Obr. 173. Prichytenie rinovírusu na proteíny cieľovej bunky.

http://www.ppdictionary.com/viruses/rhinovirus_attachment.jpg

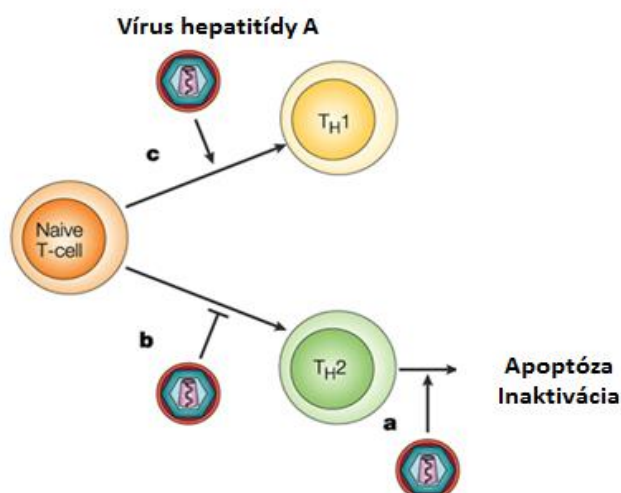
Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnóza sa stanovuje na základe klinických príznakov, v prípade potreby je možné rinovírusy diagnostikovať na základe izolácie vírusu v bunkových kultúrach primátov. Sérologické metódy sa v praxi nepoužívajú.

Hepatovírusy

Vírus hepatitídy A (HAV)

HAV sa líši od ostatných enterovírusov výrazným tropizmom k pečeneovým bunkám, mimoriadnou termostabilitou a pomalou replikáciou bez cytopatického efektu. Preto je zaradený do samostatného rodu, v súčasnosti sa však v odbornej literatúre označuje aj ako Enterovírus 72.



Obr. 174. Vírus hepatitídy A (a. produktívna infekcia T_H2 buniek, b. inhibícia vývoja T_H2 buniek, c. väzba na naivné T-bunky, stimulácia produkcie T_H1 buniek).

http://www.nature.com/nri/journal/v3/n6/fig_tab/nri1111_F4.html

Patogénny potenciál a imunita

HAV sa šíri orofekálnou cestou, replikuje sa najprv v zažívacom trakte, prostredníctvom primárnej virémie preniká do hepatocytov. Replikácia v pečenných bunkách zapríčiňuje poškodenie infikovaných buniek, difúziu zápalovú infiltráciu pečene s hyperpláziou kupferových buniek, nahromadením makrofágov. Vírus sa žľou vylučuje do čreva. Vírus stimuluje produkciu interferónu, ktorý aktivuje NK bunky a napomáha eliminácii infekcie. Približne za štyri týždne sa vyvíja špecifická protilátková odpoveď, za osem až dvanásť týždňov dochádza k eliminácii infekcie. Imunita po ochorení je pravdepodobne trvalá.

Ochorenia

Klinicky delíme ochorenie na dve štádiá. **Preikterické štádium** - trvá od 3 - 25 dní, začína sa neurčitými, väčšinou chrípke podobnými príznakmi. Toto obdobie môže pokračovať s príznakmi postihnutia zažívacieho traktu (nechutenstvo, zvracanie, hnačky, nechut' k masným jedlám, chudnutie), u časti pacientov dominuje obraz mnohopočetného postihnutia kĺbov. Vzácnne môže byť postihnutá aj nervová sústava alebo koža, vo forme rôznych kožných výsypov. **Ikterické štádium** sa prejavuje žltými očnými bielkami, žltou kožou, tmavým močom a svetlou stolicou, zväčšenou a bolestivou pečeňou. Často môže infekcia prebiehať bez symptómov, zmenené sú len pečenné testy. Vytvárajú sa špecifické protilátky triedy IgM (včasné, krátkodobé) a triedy IgG (pamäťové, celoživotné). Zriedkavo sa môže ochorenie vyvinúť do fulminantnej hepatitídy s mortalitou okolo 80%. **HAV nevyvoláva chronickú infekciu a nie je spojený so vznikom pečenného karcinómu.**

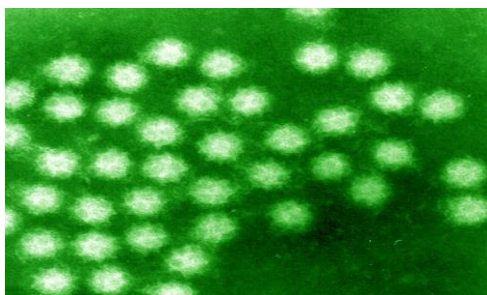
Laboratórna diagnostika a liečba

V rámci špecifickej virologickej diagnostiky sa najčastejšie využíva dôkaz tzv. včasných protilátok triedy IgM metódami enzýmovej imunoanalýzy (CMIA, ELISA, a pod.). Tieto protilátky sú obyčajne detekovateľné už v 3. – 4. týždni po nákaze, dajú

sa zistiť skoro vždy po nástupe klinických symptómov a pretrvávajú 2 – 6 mesiacov po infekcii Protilátky. Po 3 - 4 ďalších týždňoch nastupujú aj protilátky triedy IgG , ktoré ostávajú v sére celoživotne prítomné. Protilátky triedy IgG sa vytvoria v krvi aj po očkovaní. Najúčinnějšíou prevenciou je očkovanie proti hepatitíde A. Vakcína je bezpečná a účinná, bežne je k dispozícii aj kombinovaná vakcína proti hepatitíde A a B.

Norovírusy

Norovírusy (vrátane Norwalk vírusu a astrovírusov) patria do rodiny *Caliciviridae*. Norovírusy boli objavené v stolici osôb s epidemickou akútnou gastroenteritídou. Tieto neobalené vírusy majú jednovláknovú RNA pozitívnej polarizácie, sú odolné voči detergentom, vysušeniu a kyslému prostrediu. Vyvolávajú gastroenteritídy.



Obr. 175. Ľudský calicivírus – elektrónová mikroskopia.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/4/41/Human_Calicivirus.jpg

Patogénny potenciál a imunita

Vírusy infikujú bunky jejúna, vyvolávajú cytoplazmatickú vakuolizáciu a infiltráciu mononukleárnymi bunkami. Výsledkom je poškodenie absorpcie vody a živín. Histologické zmeny sú prítomné aj na sliznici žalúdka. Imunita je krátkodobá a nemusí byť protektívna.

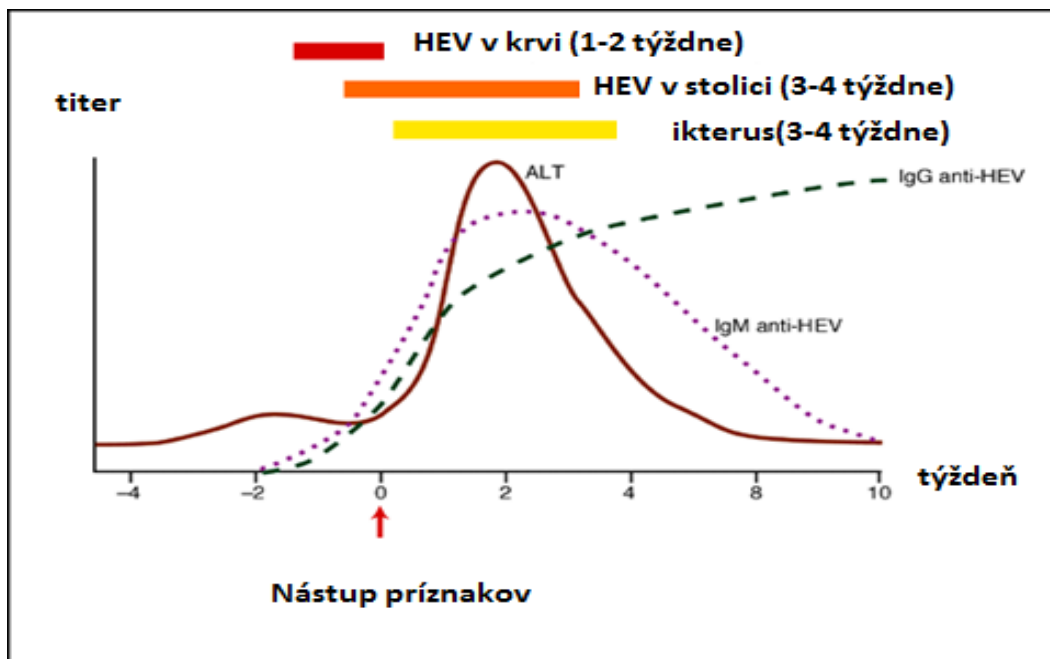
Ochorenia

Medzi hlavné klinické príznaky infekcie calicivírusmi patrí hnačka, nauzea a vracanie, hlavne u detí. Jedna tretina pacientov má horúčku. Astrovírusy vyvolávajú hnačky bez vracania, infekcia postihuje častejšie dospelú populáciu.

Laboratórna diagnostika a liečba

Identifikácia vírusov sa robí pomocou elektrónovej mikroskopie, protilátky proti Norwalk vírusu je možné stanoviť sérologickými testami (ELISA, RIA). Špecifická terapia neexistuje.

* **Vírus hepatitídy E (VHE)** má charakteristiky pripomínajúce calicivírusy. Šíri sa orofekálnou cestou, najmä vodou. Symptómy a vývoj infekcie a symptómy sú podobné ako pri HAV, vírus hepatitídy E vyvoláva len akútne ochorenia.



Obr. 176. Hepatitída E – vývoj klinických príznakov a protilátkovej odpovede.
<http://liveonearth.livejournal.com/504483.html>

Kazuistika

Chlapec, ktorý navštívil koncert, štyrikrát vracal v koncertnej hale – raz do odpadkového koša, raz na toaletách, na požiarnom schodisku a na koberec priamo v sále. U členov jeho rodiny sa rovnaké príznaky objavili v priebehu 24 hodín. V priebehu toho istého dňa sa na koncerte zúčastnili aj deti z iných škôl. Deti, ktoré sa pohybovali v priestoroch, kde chlapec vracal, ochoreli v priebehu dvoch dní – mali vodnaté hnačky a vracali. PCR vyšetrením stolice od dvoch detí sa potvrdila prítomnosť Norwalk vírusu.

Charakterizujte norovírusy.

Aké laboratórne testy je možné použiť na stanovenie norovírusov v biologických vzorkách?

Ako sa liečia infekcie vyvolané norovírusmi?

OTÁZKY

1. Aké sú základné charakteristiky picornavírusov?
2. Ktoré vírusy patria medzi enterovírusy?
3. Aké ochorenia vyvolávajú enterovírusy?
4. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia hepatitídy A?
5. Ako sa prejavuje infekcia vírusom hepatitídy E?

2.2.2 Obalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnu polaritou

Coronavírusy

Charakteristika

Sú to obalené vírusy s pozitívnu nesegmentovanou RNA s helikálnou kapsidou. Ich genom patrí medzi najväčší, obal je odvodený z intracelulárnych membrán. Názov majú podľa vzhľadu v elektrónovom mikroskope, kde je možné sledovať glykoproteínové výbežky na povrchu (vzhľad podobný „korune slnka“). Genóm sa replikuje s určitou možnosťou mutácií odhadnutou asi na 1:10 000 nukleotidov. Táto vlastnosť má za následok veľký počet delečných a rekombinančných mutácií a vývoj nových kmeňov vírusu (príkladom je vírus vyvolávajúci klinické ochorenie SARS) Vírusy infikujú ľudí aj zvieratá, u ktorých spôsobujú črevné a respiračné ochorenia. Sú druhým najčastejším vyvolávateľom respiračných ochorení. Optimálna teplota pre replikáciu je podobne ako u rhinovírusov 33°C - 35 °C.

Patogénny potenciál a imunita

Prenos vírusu sa uskutočňuje vdýchnutím infekčného aerosolu, ktorý je kontaminovaný vírusovými časticami z nosového sekrétu chorých ľudí. Vírusy infikujú bunky sliznice horných dýchacích ciest a epitel zažívacieho traktu. Infekcia gastrointestinálneho traktu sa vyskytuje len u novorodencov. U laboratórnych zvierat infekcia neurálnych buniek spôsobuje demyelinizačné zmeny podobné skleróze multiplex (proces súvisí s S-proteínom koronavírusov, imunitná odpoveď na S- proteín vyvolá atak proti myelínu – molekulárne mimikry, podobne ako u poststreptokokových ochorení). Tkanivové poškodenie je spôsobené proteolytickými účinkami enzýmov. Ochorenie je charakterizované zníženým počtom lymfocytov.

Ochorenia

Koronavírusy vyvolávajú **respiračné ochorenia** najmä u detí, s maximom výskytu v zimných a v jarných mesiacoch. Sú tiež pôvodcami vírusových **gastroenteritíd** vo všetkých vekových skupinách.

V roku 2002 sa objavil nový syndróm nazvaný **SARS - „severe acute respiratory syndrome“ - ťažký akútny respiračný syndróm** v provincii Guangdong v Číne. Pôvodne sa predpokladalo, že vírus bol prenesený na človeka od kačiek a prasiat, ktoré v tejto oblasti žijú v úzkom kontakte s ľuďmi. Toto sú však zvieratá, z ktorých pochádzajú nové vírusy chrípky, ľudia sa nakazili v priebehu prípravy stravy. Vírus bol izolovaný aj zo stolice viacerých zvierat, ktoré boli bez príznakov. Ochorenie odvtedy hlásené z oblastí Ázie, Severnej Ameriky aj Európy je charakterizované teplotou nad 38°C s bolesťou hlavy, nevoľnosťou, myalgiami, artralgiami. Respiračné príznaky sú spočiatku mierne, až po niekoľkých dňoch prípadne týždňoch sa vyvinie neproduktívny kašeľ, dyspnoe, poškodenie pečene, lymfopénia a v 3% – 30% smrť. Výskyt ochorenia kulminoval v apríli 2003.

Laboratórna diagnostika a liečba

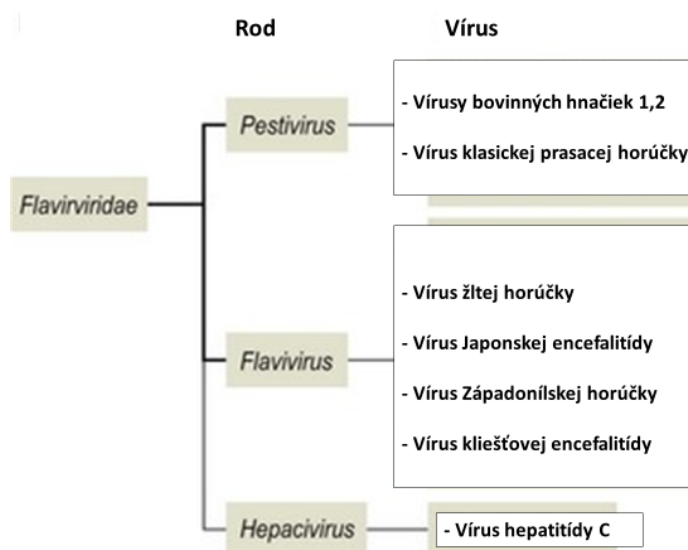
Vírus sa podarilo izolovať na opičích Vero E6 bunkách tkanivovej kultúry a bol identifikovaný ako nový koronavírus (SARS CoV). 21 dní po infikovaní je možné detekovať špecifické protilátky ELISA testami. Priamo je možné dokázať vírus RT PCR

(real time PCR). Terapia je symptomatická, špecifickejšie sa skúmajú prípravky blokujúce funkciu proteáz. Vakcína nie je k dispozícii. Laboratórne sa rieši problém živej vakcíny s možnosťou antigénneho šiftu vzhľadom na mutačný potenciál genómu.

Flavivírusy

Charakteristika

Flavivírusy spolu s alfavírusmi sú historicky klasifikované ako **arbovírusy** (z angl. arthropod-borne virus). Sú obalené, obsahujú jednovláknovú RNA pozitívnej polarity. Všetky flavivírusy sú sérologicky príbuzné, protilátky proti jednému vírusu môžu neutralizovať ostatné vírusy. Vírusy z tohto rodu sa rozdeľujú do nasledujúcich skupín: **vírus Japonskej encefalitídy, vírusy Dengue, vírus žltej zimnice**, ktoré sú prenášané komármi a **vírusy kliešťových encefalitíd**, prenášaných kliešťami.



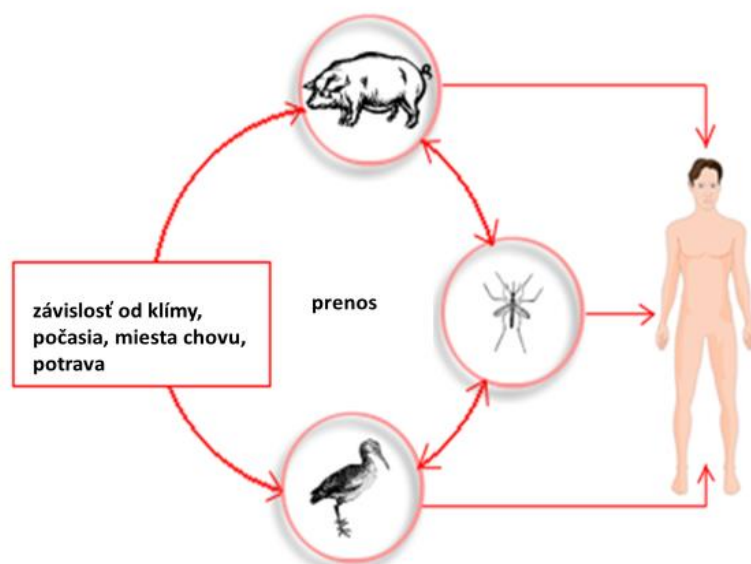
Obr.177. Flavivírusy – rozdelenie.

*Medzi flavivírusy sa zaraďuje aj **vírus hepatitídy C (HCV)**, ktorý však nepatrí medzi arbovírusy.

****Vírus hepatitídy G (VHG)**, je tiež známy ako **GB vírus-C (GBV-C)** je flavivírus prenášaný krvou, vyvoláva chronické hepatitídy. Identifikácia sa vykonáva na základe identifikácie genómu pomocou RT-PCR.

Patogénny potenciál a imunita

Hmyzom prenášané flavivírusy vstupujú do hostiteľského organizmu prostredníctvom hmyzieho vektora pri cicaní krvi. Vírusové častice cirkulujú voľne v plazme, dostávajú sa k cieľovým bunkám (endotelové bunky kapilár, makrofágy, monocyty, bunky retikuloendotelového systému). Nasleduje replikácia v bunkách RES, môže sa objaviť sekundárna virémia. Vírus preniká do cieľových orgánov (mozog, pečeň, koža, cievy). Humorálna aj bunková imunita sú dôležité pre kontrolu primárnej infekcie a pre prevenciu pred budúcou infekciou. Interferón limituje ďalšiu replikáciu vírusu a vyvoláva rýchly nástup symptómov pri miernom ochorení.



Obr. 178. Prenos Japonskej encefalitídy

<https://flavivirus.wordpress.com/methods-of-transmission/>

Ochorenia

Infekcie sú väčšinou benígne, môže sa však vyskytnúť závažná encefalitída alebo hemoragická choroba. Žltá zimnica je charakterizovaná systémovými prejavmi s poškodením obličiek, pečene (žltacka), srdca a masívnym krvácaním z gastrointestinálneho traktu. Podobne aj horúčka Dengue má obvykle mierny priebeh, niekedy sa môže vyvinúť syndróm ťažkej hemoragickej horúčky, ktorý vedie k smrti pacienta. Vírus japonskej encefalitídy sa vyskytuje v oblastiach, kde sa pestuje ryža, prenášajú ho komáre z rodu *Culex*. Vírusy kliešťových encefalitíd vyvolávajú buď mierne infekcie (vírus vrtivky, vírus Powasan), alebo ťažké hemoragické infekcie s postihnutím centrálného nervového systému (vírus kliešťovej encefalitídy východného typu, vírus kliešťovej encefalitídy západného typu, vírus choroby Kyasanurského lesa, vírus Omskej hemoragickej horúčky).

Tabuľka 41. Flavivírusy a alfavírusy – epidemiológia.

FLAVIVÍRUSY A ALFAVÍRUSY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - obalené vírusy - preferujú vlhké prostredie - citlivé na vysušenie, mydlo a detergenty
Prenos	<ul style="list-style-type: none"> - článkonožce - zoonózy
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - ľudia žijúci v oblastiach výskytu infikovaných článkonožcov
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - dengue, žltá zimnica (komáre <i>Aedes</i>) – v mestách, bazénoch - Západonílska encefalitída (komáre <i>Culex</i>) – mestské oblasti, pralesy - vyšší výskyt v letnom období
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none"> - eliminácia komárov - žltá zimnica – živá atenuovaná vakcína - Japonská encefalitída – inaktivovaná vakcína

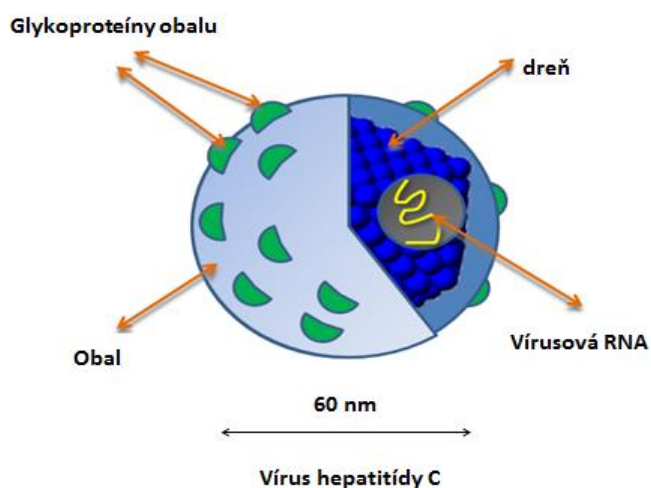
Laboratórna diagnostika a liečba

Izolácia vírusu sa robí z krvi. Signifikantný vzostup špecifických protilátok v rekonvalescenčnom sére sa dokazuje pomocou KFR alebo HIT. Na rýchlu diagnostiku sa využíva stanovenie špecifických IgM počas akútneho ochorenia. Proti kliešťovej encefalitíde je dostupná celoviriónová inaktivovaná vakcína.

Vírus hepatitídy C (HCV)

Patogénny potenciál a imunita

Vírus hepatitídy C patrí do rodiny *Flaviviridae*, do rodu *Hepacivirus*. Vírus sa množí v bunkách pečene (hepatocytoch) a v bielych krvinkách (B-lymfocyty) do extrémne vysokých hodnôt. Veľmi často takto vznikajú geneticky zmenené formy vírusu, čo sťažuje imunitnému systému schopnosť zneškodniť infekciu. Infekcia má preto sklon prechádzať do chronického štádia. Za poškodenie pečene tak do značnej miery môžu imunitné reakcie. Virémia trvá 4-6 týždňov pri akútnej infekcii a dlhšie ako 10 rokov pri perzistujúcej infekcii. Protilátky proti HCV nie sú protektívne.



Obr. 179. Štruktúra vírusu hepatitídy C.

http://en.citizendium.org/images/9/96/HCV_structure.png

Ochorenia

Vírus hepatitídy C vyvoláva tzv. non A- non B hepatitídu (NANB hepatitída), je hlavnou príčinou postransfúzných hepatitíd. Vírus sa prenáša parenterálne alebo sexuálnym kontaktom. Infekcia prebieha buď ako akútne ochorenie alebo ako chronická hepatitída. Chronické postihnutie pečene vedie k rozvoju cirhózy a je predisponujúcim faktorom pre vznik primárneho hepatocelulárneho karcinómu. K osobám so zvýšeným rizikom nákazy patria ľudia s vrodenou krvácavosťou (hemofiliou), pacienti po operáciách a matky po ťažkých pôrodoch s podanou transfúziou (predovšetkým v minulosti), darcovia a príjemcovia krvi pred rokom 1992, osoby po transplantácii orgánov alebo tkanív, dialyzovaní pacienti, zdravotníci pracovníci, sexuálni partneri a

rodinní príslušníci HCV pozitívnych osôb. Riziko infekcie transfúziou krvi a krvnými derivátmi a transplantáciou orgánov je po zavedení povinného testovania darcov na prítomnosť protilátok proti HCV ako u nás, tak aj vo všetkých rozvinutých krajinách takmer nulové.

Laboratórna diagnostika a liečba

Laboratórna diagnostika je založená na stanovení protilátok proti vírusu hepatitídy C. Anti-HCV protilátky sú detegované väčšinou za 6 - 8 týždňov po získaní infekcie. Pri akútnych vírusových hepatitídach s anti-HCV negatívnym nálezom a bez známk infekcie HAV a HBV je potrebné vyšetrenie anti-HCV po niekoľkých týždňoch zopakovať. V týchto prípadoch je indikované stanovenie vírusovej nukleovej kyseliny HCV RNA, ktorá je dokázateľná už o niekoľko dní po infekcii. S prechodom do chronického štádia sa protilátková odpoveď naopak zvyrazňuje. Vyšetrením protilátok nemožno odlíšiť akútnu a chronickú infekciu. Kvalitatívny dôkaz HCV RNA je významný najmä u chorých s neurčitým výsledkom testu anti-HCV. Pozitívny dôkaz HCV RNA metódou PCR znamená na rozdiel od dôkazu anti-HCV protilátok – aktívnu infekciu HCV. Stanovenie jednotlivých genotypov vírusu hepatitídy C a kvantitatívne stanovenie HCV RNA PCR je dôležité pre vyhodnotenie účinnosti liečby, resp. je kritériom pre rozhodovanie o jej trvaní (IFN-alfa + ribavirín).

Štandardom liečby hepatitídy C je užívanie pegylovaných interferónov a ribavirínu. Prevencia ochorenia spočíva predovšetkým v opatreniach na zabránenie kontaktu s infikovanou krvou alebo telesnými tekutinami, prísny výber darcov krvi a iných biologických tkanív (skriningové vyšetrenia ukazovateľov vírusovej hepatitídy C). Veľmi dôležitým preventívnym opatrením je výmenný program striekačiek a ihlích pre drogovu závislých ako i výchova ľudí (najmä mladých) k bezpečnejšiemu pohlavnému životu a vyhýbanie sa tetovaniu, piercingu a akupunktúre v krajinách s nedostatočným hygienickým štandardom.

Togavírusy

Alphavirus – EEE virus, WEE virus, VEE virus

Rubivirus – vírus rubeoly

Togavírusy sú obalené a obsahujú RNA genóm s pozitívnou orientáciou. Niektoré vírusy z tejto skupiny sú tzv. arbovírusy (arthropod-borne), ich životný cyklus prebieha v článkonožcoch a stavovcoch, na ktoré sú prenášané hmyzím vektorom. Človek je náhodným hostiteľom a nie je súčasťou vývojového cyklu.

Alfavírusy

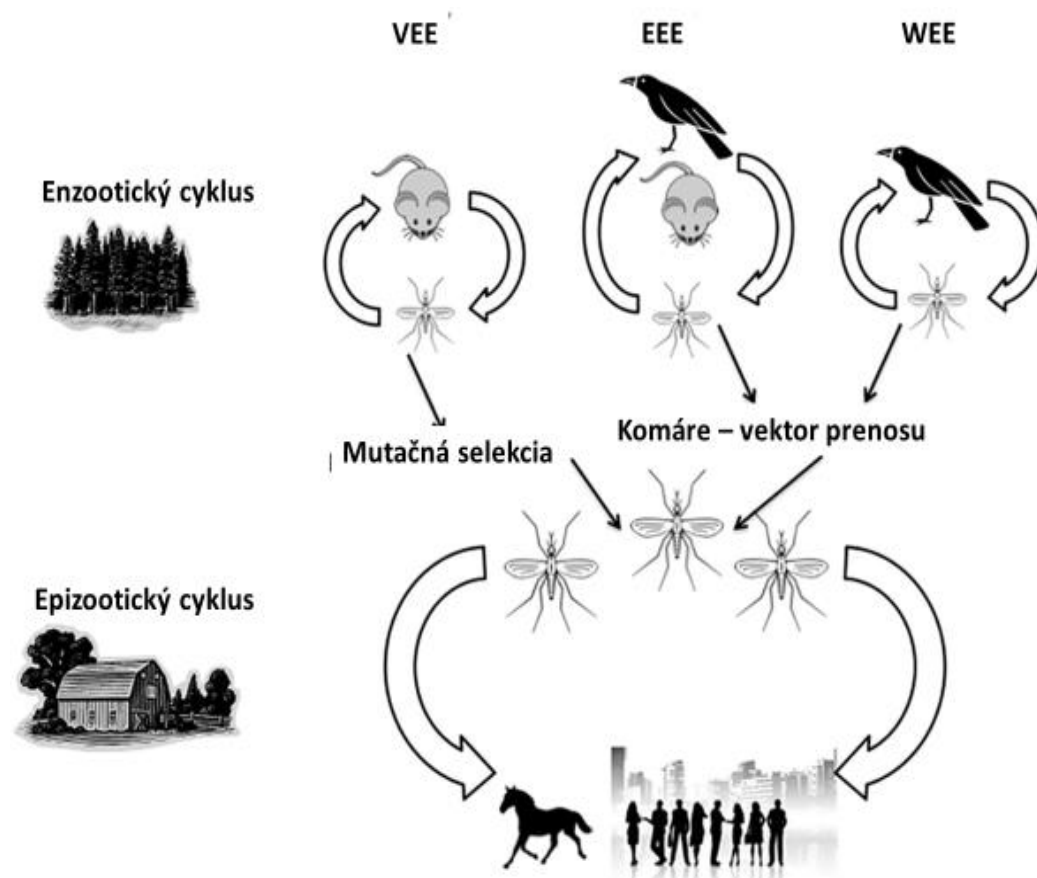
Charakteristika

Alfavírusy obsahujú nukleoproteínovú kapsidu s glykoproteínmi, obalenú lipidovou dvojvrstvou, ktorá je odvodená z hostiteľskej bunkovej membrány. Protilátky proti glykoproteínom sú neutralizujúce. Vírus vstupuje do bunky pinocytózou a replikuje sa v cytoplazme. Puzdro získava provírus pučaním cez bunkovú membránu. Vývojový cyklus alfavírusov prebieha v malých hlodavcoch a nízkej lesnej zveri a prenáša sa kliešťom. Človek je náhodným hostiteľom, nepotrebným pre vývojový cyklus. Infikuje sa prisatím infikovaného kliešťa. Je potrebná určitá doba prisatia, počas ktorej sa vírus

replikuje v bunkách žalúdka a je vylučovaný do krvi hostiteľa, aby došlo k vzniku infekcie.

Patogénny potenciál a imunita

Vírusy sa dostávajú do tela hostiteľa najčastejšie po prisatí infikovaného hmyzu, nasleduje primárna virémia a replikácia vírusu v cieľových tkanivách s manifestáciou systémových príznakov. Vírusy vyvolávajú lytické alebo perzistujúce infekcie, bunková smrť je výsledkom vírusom indukovaného poškodenia. Veľké množstvo vírusovej RNA blokuje hostiteľskú mRNA. Togavírusy tiež zvyšujú permeabilitu bunkovej membrány v hostiteľskej bunke, čo vedie k poruchám v koncentráciách sodíka a draslíka. Togavírusy indukujú produkciu interferónu, ktorý ich inaktívuje. Protilátková imunita je protektívna a limituje ochorenie. Bunkami sprostredkovaná imunita sa pravdepodobne podieľa na vzniku hemoragických prejavov ochorenia.



Obr. 180. Alfavírusy – prenos infekcie.

Ochorenia

Alfavírusy vyvolávajú infekcie, ktoré sa môžu vyvinúť až do encefalitídy u ľudí a koní. EEE – východoamerická encefalitída koní, WEE – západoamerická encefalitída koní, VEE – venezuelská encefalitída koní, sú ochorenia s prírodnou a dvojfázovým priebehom. Vývojový cyklus vírusu prebieha v malých hľodavcoch a nízkej lesnej zveri a prenáša sa komármi alebo kliešťami. Človek je náhodným hostiteľom, nepotrebným pre vývojový cyklus. Nákaza v prvých mesiacoch tehotenstva môže viesť k infekcii plodu a k jeho poškodeniu.

Laboratórna diagnostika a liečba

Vírusy je možné izolovať z krvi v období virémie. Dostupnejšia je nepriama diagnostika detekciou špecifických IgM a IgG protilátok. Pre potvrdenie intratekálnej tvorby protilátok pri postihnutí mozgu je možné stanoviť špecifický index tvorby. Terapia je symptomatická. Prevencia je dostupná pre EEE, WEE.

Vírus rubeoly

Charakteristika

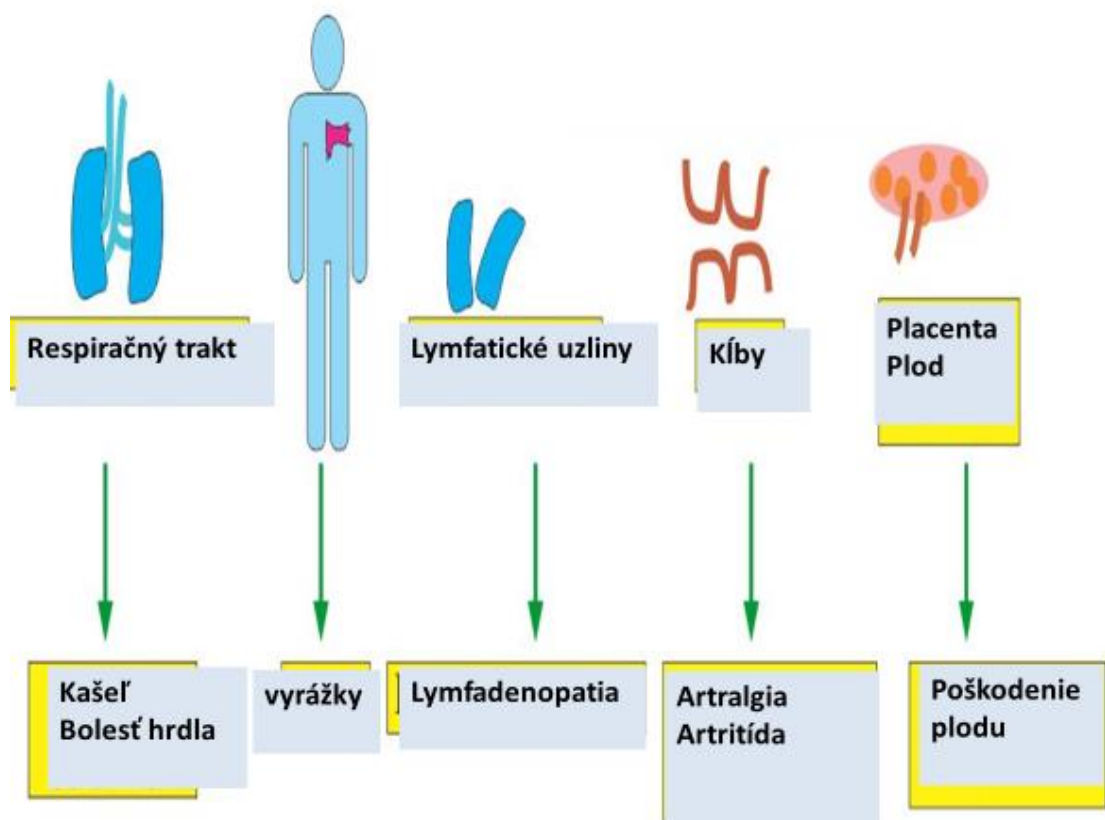
Jediným zástupcom rubivírusov je vírus rubeoly, ktorý vyvoláva rubeolu (ružienku, German measles). Pred zavedením očkovania bola ružienka bežným benígnym ochorením detského veku. V prípade primoinfekcie v prvom trimestri tehotenstva, existuje riziko intrauterinnej infekcie s následným postihnutím plodu (Greggovo trias). Vírus ružienky má odlišnú cestu prenosu – prenáša sa respiračnou cestou, obvykle nevyvoláva detekovateľnú cytopatológiu. Prirodzeným hostiteľom tohto vírusu je len človek.

Patogénny potenciál a imunita

V respiračnom trakte a v regionálnych lymfatických uzlinách dochádza k prvotnému pomnoženiu vírusu. Nasleduje virémia a postupne sa vyvíjajú typické prejavy na koži (makulo-papulózny exantém), ktoré sú výsledkom imunopatologickej reakcie organizmu na imunokomplexy v kožných kapilárach a v koži. Tri dni pred nástupom exantému je výskyt vírusu v dýchacích cestách najväčší. Pri intrauterinnej infekcii sa vírus lokalizuje v bunkách placenty a plodu, rozmnožuje sa vo všetkých orgánoch plodu a spôsobuje bunkovú smrť a poškodenie plodu. Greggovo trias – syndróm kongenitálnej rubeoly sa prejaví postihnutím oka, srdca a mozgu. Vírus perzistuje v tkanivách dieťaťa 3-4 roky a vylučuje sa až rok po narodení. Protilátková imunita sa vyvíja bezprostredne po virémii a eliminuje vírus z krvi, bunková imunita zodpovedná za kožné prejavy vedie k eliminácii vírusu z tkanív. Prirodzená infekcia zanecháva celoživotnú imunitu.

Ochorenia

Ružienka sa prejavuje typickým exantémom na koži, zdurením retroaurikulárných, okcipitálnych a cervikálnych uzlín a horúčkou. Exantém sa začína na tvári a postupne sa rozšíri na trup a končatiny. Medzi komplikácie patrí artritída, trombocytopénia, encefalitída. **Intrauterínna infekcia** sa prejavuje charakteristickým Greggovým trias-syndróm kongenitálnej rubeolly s postihnutím oka, srdca a mozgu. Vírus perzistuje v tkanivách dieťaťa 3-4 roky a vylučuje sa počas jedného roka od narodenia.



Obr. 181. Rubeola – klinická manifestácia.

www.labpedia.net/test/311

Laboratórna diagnostika a liečba

Dôkaz štvornásobného vzostupu titra protilátok hemaglutinačne inhibičným testom (HIT) bol nahradený dôkazom špecifických IgM protilátok pre akútne ochorenie, IgG pre prekonané ochorenie a antiinfekčnú a postvaccinačnú imunitu. Diagnostika intrauterinnej infekcie je možná z fetálnej krvi (dôkaz IgM protilátok), potvrdenie kongenitálnej infekcie umožňuje dôkaz IgM protilátok v pupočníkovej krvi. Dôkaz špecifických IgM a hemaglutinačných protilátok u tehotných žien je potrebné hodnotiť opatrne, pre možnú nešpecifickú reakciu a polyklonálnu syntézu v období gravidity. Je vhodný opakovaný odber, dôsledná anamnéza, potvrdenie infekcie plodu. Terapia je symptomatická. Na prevenciu sa používa živá vakcína. Pri aplikácii mimo imunizačnú schému sa neodporúča podať očkovaciu látku tri mesiace pred plánovaným otehotnením. Celoplošné očkovanie (chlapcov aj dievčat) má zabrániť šíreniu vírusu v populácii (riziko infekcie neimunizovateľných a neimúnnych, zabrániť nárastu virulencie pri pasážovaní na živých médiách).



Obr. 182. Rubeola.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Morbillivirus_measles_infection.jpg

Kazuistika

Po návrate z výletu v Mexiku sa u 25-ročného muža objavila artralgia a ružové vyrážky, ktoré mal najprv na tvári, postupne sa rozšírili na celé telo. Pacient udával, že pár dní pred tým, ako sa objavili vyrážky sa cítil, ako keby mal chrípku.

Ktoré príznaky v tomto prípade naznačujú, že by mohlo ísť o rubeolu?
Prečo sa symptómy dostavili po výlete do Mexika?
Ako sa rubeola prenáša?

OTÁZKY

1. Aké sú základné charakteristiky flavivírusov?
2. Vymenujte flavivírusy prenášané hmyzom. Ktoré ďalšie vírusy zaraďujeme medzi flavivírusy?
3. Aká je patogenéza hepatitídy C?
4. Ako sa diagnostikuje hepatitída C?
5. Ktoré vírusy zaraďujeme medzi togavírusy?
6. Ktoré ochorenia vyvolávajú alfavírusy?
7. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia rubeoly?

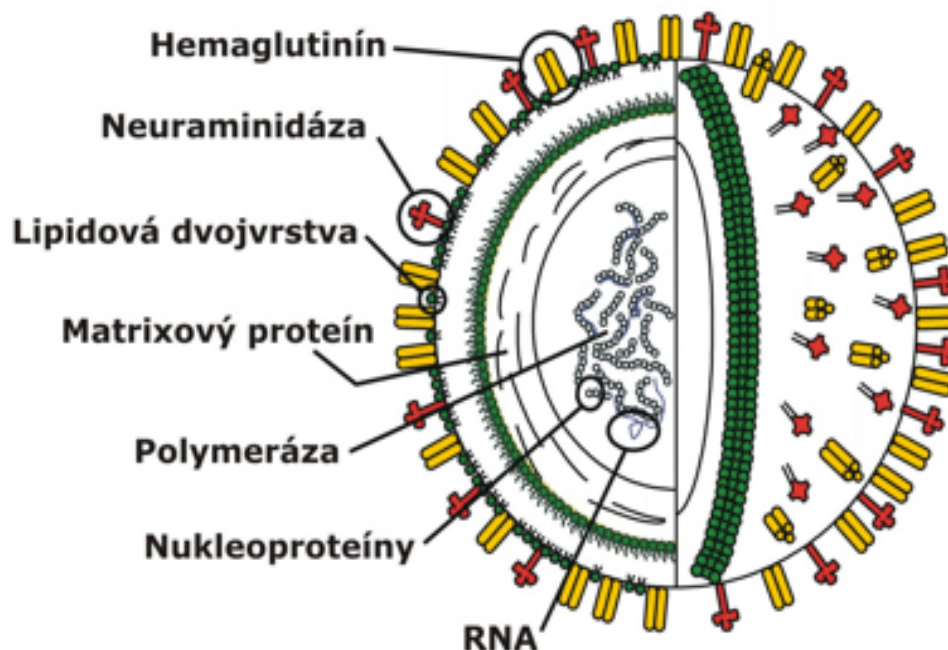
2.2.3 Obalené jednovláknové RNA vírusy s negatívnou polaritou

Orthomyxovírusy

Vírus chrípky A, B, C

Termín chrípka sa všeobecne nesprávne používa pre rôzne vírusové ochorenia dýchacích ciest a gastrointestinálneho traktu (črevná chrípka).

Rozdelenie vírusov chrípky na typ A, typ B, typ C je založené na rozdielnej štruktúre nukleoproteínového antigénu. Typ A je zodpovedný za periodicky sa vyskytujúce pandémie, typy A aj B vyvolávajú regionálne infekcie a epidémie v priebehu zimnej sezóny. Typ C neinfikuje ľudí. Zvieratá infikuje len typ A.



Obr. 183. Štruktúra vírusu chrípky.

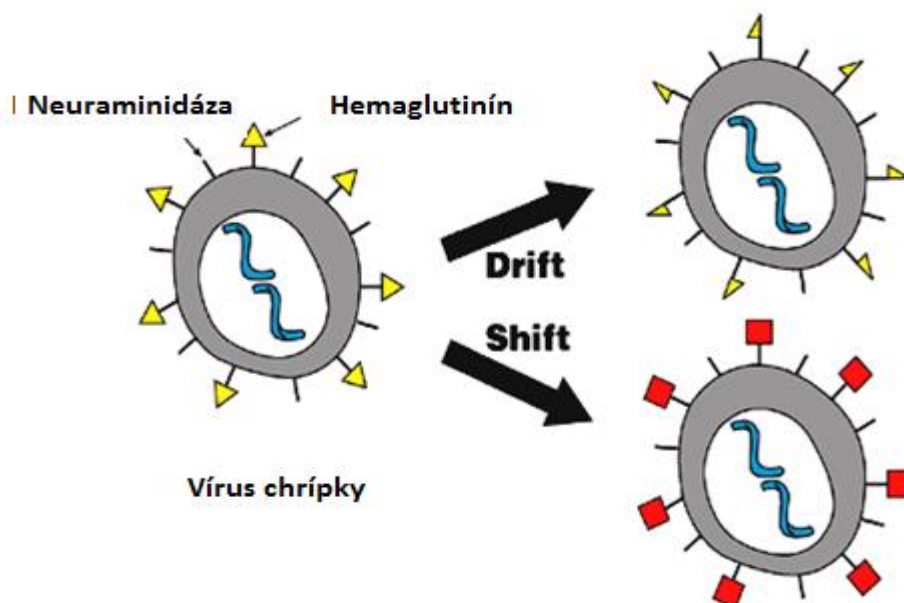
<http://www.epis.sk/InformacnaCast/Temy/Chripka/OChripke.aspx>

Charakteristika

Vírusy chrípky spôsobujú akútne respiračné ochorenia s prevahou celkových príznakov napriek tomu, že vírus sa nešíri mimo sliznicu dýchacích ciest. Vírus obsahuje jednovláknovú negatívnu RNA rozdelenú na 8 segmentov a je obalený lipidovou dvojvrstvou s významnými povrchovými antigénmi (hemagglutinín H a neuraminidáza N). Hemagglutinín (H) je povrchový antigén, zodpovedný za spontánnu aglutináciu niektorých vtáčích a zvieracích erytrocytov. Existuje 13 rôznych hemagglutínínov a 9 typov antigénu N (neuraminidáza), u vtákov je to až 117 kombinácií. U ľudí sa zatiaľ vyskytli len tri kombinácie (H1N1, H2N2, H3N2). Segmentovaný genóm vírusu umožňuje genetickú rekombináciu v simultánne infikovaných bunkách a vznik nových antigénnych variantov významnou zmenou molekuly N a H (antigénny shift zodpovedný za vznik nových pandemických kmeňov). Vyskytuje sa len u vírusu chrípky typu A. Mutácie RNA genómu vírusu sú zodpovedné za menšie zmeny antigénnych charakteristík molekúl N a H a za vznik epidemických kmeňov (antigénny drift, vyskytuje sa u všetkých typov A, B, C).

Označenie chrípkových vírusových kmeňov:

Izolovaný kmeň vírusu chrípky sa označuje názvom v ktorom je označenie typu, subtypu a tiež miesta, poradia a roku izolácie. Napríklad v sezóne 1999/2000 koloval v Európe A (H3N2) Sydney 5/97, kde: A = typ vírusu, H3N2 = subtyp (podľa kombinácie povrchových antigénov), Sydney = virologické laboratórium v Sydney, kde bol vírus izolovaný, 5 = poradie izolácie (išlo o 5. vírus chrípky izolovaný v tomto laboratóriu v danom roku), 97 = rok izolácie tohto kmeňa. Vírusy chrípky B sa uvádzajú bez subtypového kódu napríklad B Beijing (Peking)184/93.



Obr. 184. Antigénny drift a antigénny shift.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/ca/Antigenic_drift_vs_shift.png

Patogénny potenciál a imunita

Infekcia sa šíri vzdušnou cestou, infikovanými sekrétmi dýchacích ciest a infekčným sekrétom kontaminovaným prachom, kvapôčkami, rukami. Vírus sa lokalizuje v epiteli dolných dýchacích ciest (tracheobronchiálna sliznica). Prichytenie je sprostredkované hemagglutinínom, vírus vstupuje do bunky pinocytózou. Replikácia sa uskutočňuje v jadre a nový vírus sa uvoľňuje pučaním, pri ktorom dochádza k lýze hostiteľskej bunky. Šírenie vírusu je umožnené aktivitou neuraminidázy. Poškodené bunky respiračného traktu a produkcia interferónu sú podstatou prejavov ochorenia. Pri ochorení nie je prítomná virémia. Interferón a IgA protilátky v horných dýchacích cestách a IgG v dolných dýchacích cestách sú dôležité pri vzniku infekcie. Majú neutralizujúce účinky na hemagglutinín a neuraminidázu. Bunková imunita je významná pre vyliečenie.

Ochorenia

Vírusy chrípky spôsobujú akútne respiračné ochorenia s prevahou celkových príznakov napriek tomu, že vírus sa nešíri mimo sliznicu dýchacích ciest. V závislosti na imunitnom stave jedinca, infekcia môže byť mierna alebo veľmi vážna. Medzi komplikácie patrí bronchiolitída, otitis media (hlavne u detí), ďalej bakteriálna pneumónia (superinfekcia), myozitída a postihnutie centrálného nervového systému (postchrípková encefalitída).

Vtáčia chrípka – vírus s antigénnou štruktúrou H₅N₁ infikuje primárne vtáky a hydinu. Epidemiologicky významný je možný vznik koinfekcie s ľudskými chrípkovými vírusmi, čo môže mať za následok rekombinácie a zmenu vlastností ľudských chrípkových vírusov a vznik nových pandemických kmeňov. Prenos vírusu na človeka je zriedkavý. Vyskytol sa pri úzkom dlhodobom kontakte so zvieratami. K prenosu nedochádza prostredníctvom inhalácie. Infekcia vírusom vtácej chrípky prebieha

u človeka ako ťažké chrípkové ochorenie s vysokou letalitou. Interhumánny prenos nie je potvrdený.

Prasacia chrípka – vírus so štruktúrou H₁N₁ je nový kmeň, ktorý pravdepodobne vznikol rekombináciou a bol prenesený z ošipaných na človeka v Mexiku v roku 2009. Nový kmeň s neznámymi klinickými vlastnosťami postupne infikoval obyvateľstvo na všetkých kontinentoch (pandemický kmeň). Vďaka rýchlemu vyhláseniu pandémie a s ním súvisiacich opatrení nedošlo k nekontrolovateľnému šíreniu vírusu, očkovacia látka bola pomerne rýchlo dostupná. Vlastnosti nového vírusu sa ukázali menej virulentné s výnimkou imunokompromitovaných osôb a tehotných žien.

Tabuľka 42. Vírusy chrípky – epidemiológia.

VÍRUSY CHRÍPKY A , B	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - veľký obalený virión - inaktivovaný vysušením, kyslým prostredím a detergentami - segmentovaný genóm - genetické zmeny v hemagglutiníne a neuraminidáze - koinfekcia ľudskými a zvieracími kmeňmi umožňuje vytváranie nových typov vírusov - k prenosu vírusu dochádza pred nástupom klinických príznakov - replikuje sa vo vlhkom a chladnom prostredí
Prenos	<ul style="list-style-type: none"> - inhalácia infikovaného aerosolu z dýchacích ciest - vírus sa šíri najmä v skupinách (školy)
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - séronegatívne osoby - deti - starší ľudia - imunokompromitovaní ľudia - osoby s ochoreniami srdca - astmatici - fajčiari
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - vyskytuje sa na celom svete - epidémie – lokálne - pandémie – celosvetové - zvýšený výskyt ochorenia v zimných mesiacoch
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none"> - včasná liečba a profylaxia: amantadin, rimantadin, zanamivir, oseltamivir - živé a usmrtené inaktivované vakcíny, pripravené z viacerých antigénnych typov

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika v priebehu epidémie je symptomatická. Laboratórna diagnostika za účelom potvrdenia etiologického agens je možná na základe izolácie vírusu z odobratého materiálu (sekrét a infikované bunky z laryngeálneho výteru), alebo na základe pomnoženia na kuracích embryách a následnej identifikácie pomocou hemagglutinácie. Je možná špecifická antivírusová terapia. Amantadin je použiteľný pre typ A, ak je podaný na začiatku ochorenia. Špecifická prevencia je možná, sú dostupné inaktivované

vakcíny pripravené z viacerých antigénnych typov, o ktorých sa predpokladá, že budú zodpovedné za vznik ochorení počas nasledujúcej chrípkovej sezóny.

Kazuistika

U 22-ročného muža sa v decembri objavili nasledovné príznaky: bolesti hlavy a svalov, únava, suchý kašeľ, horúčka. Po niekoľkých dňoch sa pridružila bolesť hrdla, kašeľ sa zhoršil, pacient pociťoval nevoľnosť a vracal. U jedného člena rodiny sa rovnaké príznaky prejavili pred dvoma týždňami.

Ktoré ďalšie vírusy, okrem vírusu chrípky, môžu vyvolať podobné klinické príznaky?
Ako je možné potvrdiť diagnózu chrípky?
Prečo je kontrola chrípky aj napriek imunizačnému programu zložitá?

Paramyxovírusy

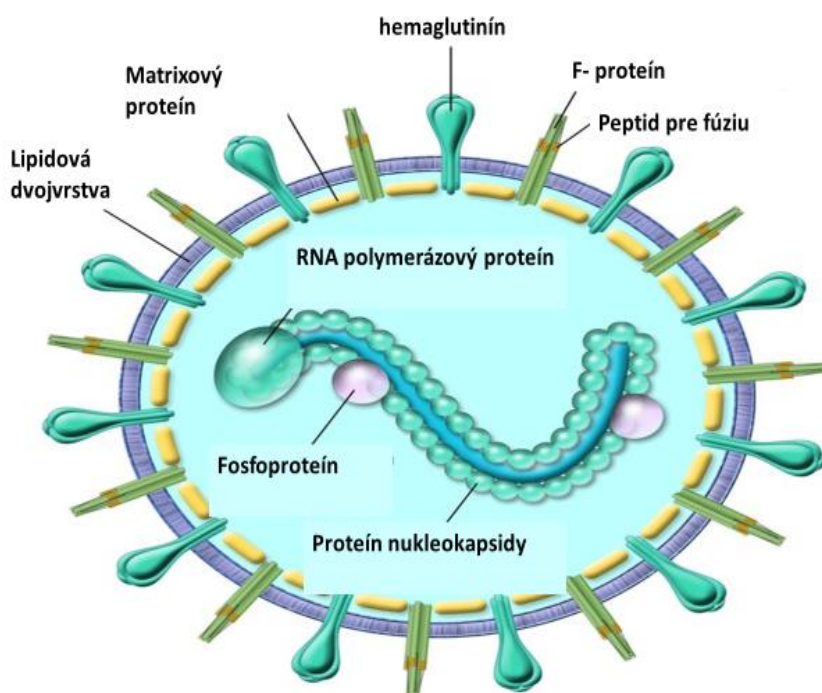
Charakteristika

Paramyxovírusy sú pomerne veľké obalené vírusy s helikálnou nukleokapsidou, majú proteíny pre prichytenie na hostiteľské bunky, indukujú fúziu infikovaných buniek a formovanie obrovských mnohojadrových buniek. *Paramyxoviridae* tvoria klinicky významnú skupinu vyvolávateľov ochorení prenosných respiračnou cestou a spôsobujúcich ochorenia dýchacích ciest (s výnimkou morbíl a parotitídy). Majú niektoré spoločné vlastnosti - obsahujú dvojvrstvé puzdro s výstupkami, majú helikálnu symetriu a obsahujú negatívny RNA genóm. Vírusová častica obsahuje RNA dependentnú RNA polymerázu a replikuje sa v cytoplazme, z ktorej sa uvoľňuje pučaním. Pre vírus špecifické antigény sú prítomné v obale aj v nukleokapside. Spoločnou vlastnosťou je tvorba mnohojadrových veľkých buniek (syncýcií) prostredníctvom produkcie faktoru spôsobujúceho fúziu a následná lýza hostiteľských buniek. Do čeľade *Paramyxoviridae* patria rody: ***Paramyxovirus* (Parainfluenza vírus 1- 4, Mumps vírus), *Morbillivirus* (Vírus osýpok), *Pneumovirus* (Ľudský respiračný syncýciálny vírus - RSV).**

Parainfluenza vírus

Patogénny potenciál a imunita

Je pôvodcom viac ako 30% akútnych respiračných ochorení detského veku od miernych (prechladnutie) až po život ohrozujúce (bronchiolitída, pneumónia, laryngitída). Vyskytuje sa v 4 antigénnych sérotypoch. Obvykle spôsobujú lokálnu infekciu horných aj dolných dýchacích ciest po prenesení do hostiteľského organizmu infekčnými kvapôčkami, kontaminovaným sekrétom alebo rukami. Vírus sa lokalizuje v riasinkovom epiteli respiračného traktu (nos, hrdlo). Môže byť vylučovaný až dva týždne, najvýznamnejším patogénnym mechanizmom je zápalová reakcia. Najpatogénnejšie sú typy 1 a 2. Účinné imunitné mechanizmy zahŕňajú produkciu interferónu a špecifických IgA protilátok.



Obr. 185. Parainfluenza vírus – štruktúra.

<https://www.jci.org/articles/view/25669/figure/1>

Ochorenia

Vírus parainfluenzy je pôvodcom viac ako 30% akútnych respiračných ochorení detského veku od miernych (prechladnutie) až po život ohrozujúce (bronchiolitída, pneumónia, laryngitída) ochorenia. K závažným prejavom infekcie patrí laryngotracheobronchitída, pri ktorej vzniká opuch v okolí hlasiviek, môže dôjsť až k uzavretiu dýchacích ciest (pri tomto klinickom obraze je potrebné odlišiť infekciu vyvolanú *H. influenzae*).

Laboratórna diagnostika a liečba

Klinický obraz nie je špecifický len pre vírus parainfluenzy. Izolácia vírusu a dôkaz špecifických IgM protilátok potvrdí etiológiu. Liečba je symptomatická, pri komplikovanom priebehu je vhodná podporná terapia. Špecifická prevencia nie je k dispozícii.

Tabuľka 43. Vírus parainfluenzy – epidemiológia.

VÍRUS PARAINFLUENZY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none">- veľký obalený virión- inaktivácia vysušením a kyslým prostredím- prenos pred nástupom symptómov- hostiteľom je človek- možné reinfekcie
Prenos	<ul style="list-style-type: none">- inhalácia veľkých infikovaných častíc aerosolu z dýchacích ciest
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none">- všetky vekové skupiny
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none">- vyskytuje sa na celom svete- sezónny výskyt v počas chladných mesiacov
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none">- --- -

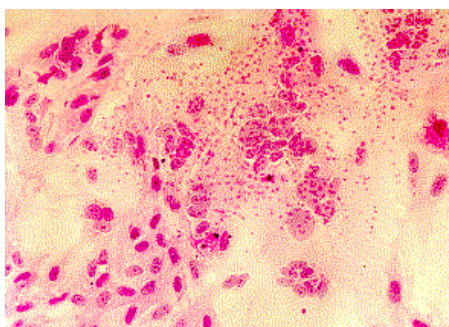
Laboratórna diagnostika a liečba

Klinický obraz nie je špecifický len pre vírus parainfluenzy. Izolácia vírusu a dôkaz špecifických IgM protilátok potvrdí etiológiu. Liečba je symptomatická, pri komplikovanom priebehu je vhodná podporná terapia. Špecifická prevencia nie je k dispozícii.

Vírus parotitídy (mumpsu)

Patogénny potenciál a imunita

Vírus mumpsu vyvoláva lytickú infekciu buniek, vyskytuje sa v jedinom sérotype. Po prenose vírusu inhaláciou sa vírus replikuje v epitelových bunkách horných dýchacích ciest a v spojovke. Následne dochádza k virémii a infikovaniu cieľových buniek žliaz (slinné žľazy, semenníky, vaječníky, pankreas) a nervového tkaniva (mozog). Sekret slinných žliaz je infekčný tri dni pred nástupom ochorenia a v priebehu klinických príznakov. Bunková imunita je dôležitá pre kontrolu ochorenia, podieľa sa aj na vzniku niektorých symptómov. Protilátky nezohrávajú kľúčovú úlohu, pretože vírus sa šíri priamo z bunky do bunky. Špecifická imunita po ochorení je protektívna a celoživotná. Pravdepodobne z dôvodu imunopatologických mechanizmov je infekcia v dospelosti klinicky závažnejšia.

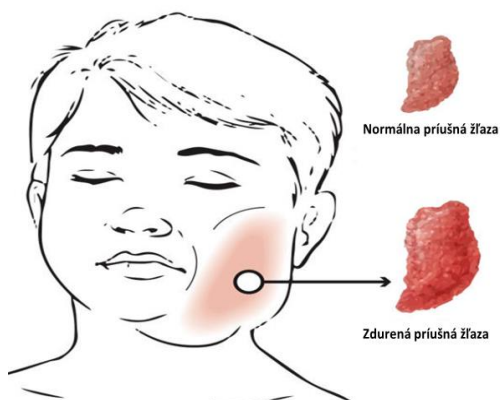


Obr. 186. Vírus parotitídy – formovanie syncýcií.

<http://virology-online.com/viruses/MUMPS.htm>

Ochorenia

Parotitída je celkové ochorenie, asymptomatické približne u 35% infikovaných. Ochorenie je obvykle benígne s typickým opuchom príušných žliaz, vo vážnejších prípadoch sa manifestuje aj pankreatitídou, orchitídou, encefalitídou. Po ochorení môžu vzniknúť dočasné alebo trvalé následky (najčastejšie hluchota, sterilita, diabetes).



Obr. 187. Opuch príušných žliaz pri parotitíde.

<https://quizlet.com/pk/304407351/mumps-virus-diagram/>

Laboratórna diagnostika a liečba

Izolácia vírusu sa robí zo slín, výteru zo spojkového vaku, moču. Replikácia v tkanivových kultúrach sa prejaví typickým cytopatickým efektom (tvorba syncýcií), na identifikáciu sa používa dôkaz nepriamou imuno fluorescenciou alebo PCR. Akútne ochorenie sa diagnostikuje klinicky, potvrdí sa prítomnosťou špecifických IgM protilátok. Znakom prekonaného ochorenia alebo postvákcináčnej imunity sú špecifické IgG protilátky. Symptomatická terapia je postačujúca. Na špecifickú prevenciu sa používa živá vakcína (obvykle MMR vakcína - mumps, morbilli, rubeolla). Vakcinálny vírus je kmeň Jeryl Lyn, UraB alebo Edmonston.

Tabuľka 44. Vírus mumpsu – epidemiológia.

VÍRUS MUMPSU	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none">- veľký obalený virión- inaktivácia vírusu vysušením a kyslým prostredím- prenos pred nástupom symptómov- asymptomatické vylučovanie vírusu- hostiteľom je človek- existuje jeden sérotyp- ochorenie zanecháva doživotnú imunitu
Prenos	<ul style="list-style-type: none">- inhalácia veľkých infikovaných častíc aerosolu z dýchacích ciest
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none">- neočkovaní- imunokompromitovaní ľudia
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none">- vyskytuje sa na celom svete- sezónny výskyt v zime a na jar
Možnosti kontroly/prevenie	<ul style="list-style-type: none">- živá atenuovaná vakcína

Kazuistika

16- ročné zdravé dievča dostalo pred troma dňami horúčku, opuchla jej ľavá strana tváre, opuch sa za posledných 24 hodín zväčšil a celkovo sa pacientka cítila slabá a unavená. Neudáva žiadne dentálne problémy. Bola očkovaná MMR vakcínou podľa očkovacej schémy.

Na ktoré infekcie je potrebné myslieť v rámci diferenciálnej diagnostiky u tejto pacientky?

Aká je patogenéza mumpsu?

Aké komplikácie môžu nastať pri infekcii vírusom mumpsu?

Vírus osýpok (Morbilli vírus)

Patogénny potenciál a imunita

Osýpky sú závažné febrilné infekčné ochorenie, inkubačný čas je 7-13 dní. Infekcia je prenosná interhumánne respiračnými sekrétmi. Vírus vyvoláva systémovú infekciu súvisiacu s virémiou po primárnej replikácii v lymfatickom a respiračnom systéme (prodromálne štádium, respiračné príznaky). Následný postup do RES, replikácia a sekundárna virémia lokalizuje vírus v sliznici dýchacieho, zažívacieho, urogenitálneho traktu a v mozgu (klinické štádium, Koplikove škvrny, exantém). Exantém je prejavom imunitnej reakcie. Interferón a špecifické protilátky bránia šíreniu vírusu. Bunkami sprostredkovaná imunita zabráni šíreniu vírusu intercelulárne a tvorbe syncýcií. Defekt T-bunkovej imunity predisponuje k ťažkému priebehu. Imunita po prekonaní ochorenia (IgG špecifické protilátky) je celoživotná. Perzistencia vírusu v bunkách (nesterilná imunita) umožní postupný vývoj celulárnych zmien vedúcich k ochoreniu, ktoré sa prejaví o niekoľko desaťročí po akútnom ochorení (nie očkovaní) – subakútna sklerotizujúca panencefalitída - SSPE. Je to neskorý následok infekcie, ktorý je spôsobený tým, že defektný vírus sa správa ako pomalý a perzistuje v mozgu. Špecifické protilátky sú prítomné v likvore a v krvi.



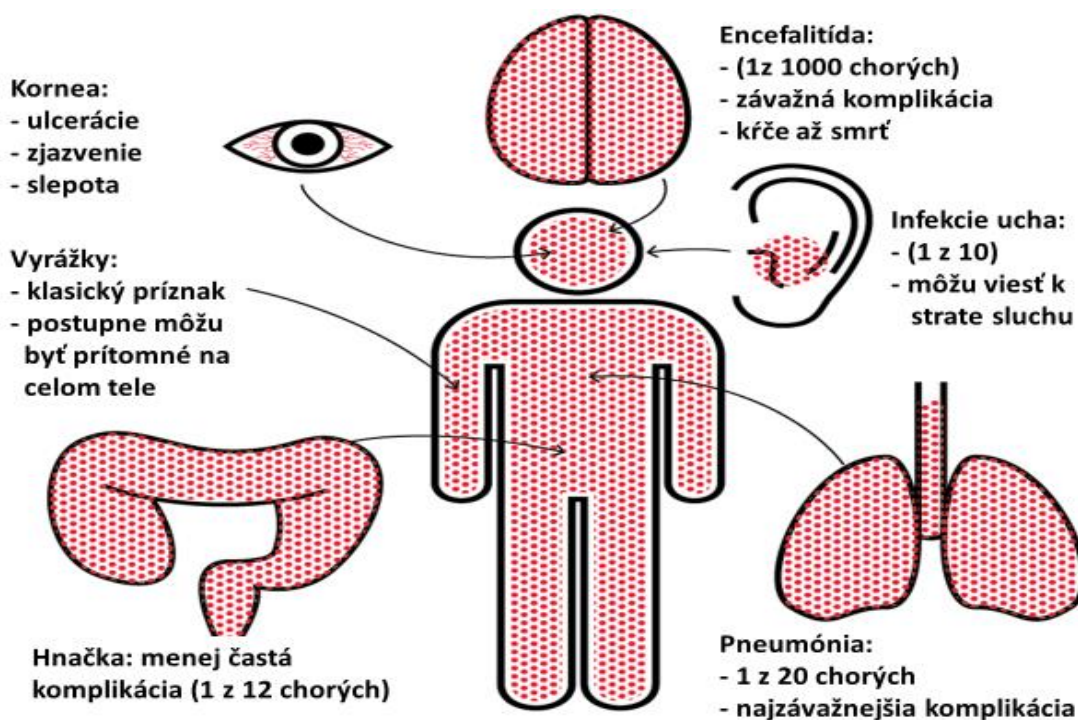
Obr. 188. Osýpky – typické vyrážky (vľavo), Koplikove škvrny (vpravo).

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Morbillivirus_measles_infection.jpg

<http://www1.lfl.cuni.cz/~hrozs/elern01/morbili1.htm>

Ochorenia

Vírus vyvoláva akútne exantémové ochorenie najmä v detskom veku, ktoré sa prejavuje horúčkou, konjunktivitídou a makulopapulóznym exantémom. Exantém sa objavuje najprv na tvári a postupne sa šíri kaudálnym smerom. Typická je prítomnosť mukózných lézií na bukálnej sliznici (Koplikove škvrny). Príležitostne sa môžu vyskytnúť komplikácie, medzi závažné patrí encefalitída alebo život ohrozujúca pneumónia. Po infekcii vírusom osýpok sa môže vyvinúť subakútna sklerotizujúca panencefalitída (SSPE), ktorá je neskorým prejavom infekcie. Prejavuje sa poruchami osobnosti, správania a pamäte, prítomné sú myoklonické pohyby, slepota a spazmy.



Obr. 189. Osýpky – klinické prejavy a možné komplikácie.

<https://matzav.com/update-on-suspected-measles-case-in-lakewood/>

Laboratórna diagnostika a liečba

Ochorenie má typické klinické príznaky, izolácia vírusu sa robí zo slín, z moču, zo sekrétov. Akútna infekcia sa dokáže produkciou špecifických IgM protilátok. Špecifické IgG protilátky sú znakom prekonanej infekcie alebo imunity navodenej vakcináciou. Dôkaz SSPE sa opiera o histologický nález - Warthin Finkeldayove bunky (obrovské mnohojadrobné bunky prítomné v hyperplastických lymfatických uzlinách). Terapia ochorenia je symptomatická. Ochorenie je preventabilné, je dostupná vakcinácia živou atenuovanou očkovacou látkou v trojkombinácii (**MMR** - **M**orbilli, **M**umps, **R**ubeolla).

Kazuistika

Na detskú jednotku intenzívnej starostlivosti bol prijatý 6- ročný chlapec pre osem dní trvajúce dyspnoe, ktoré sa objavilo potom, ako dostal vysokú horúčku, mal vyrážky a kašľal. Chlapcovi diagnostikovali osýpky so závažnou pneumóniou. Bol liečený intravenózne podávanými antibiotikami a vysokými dávkami vitamínu A. O štyri dni sa stav dieťaťa zlepšil, bolo prepustené domov. Pacient nebol očkovaný MMR vakcínou podľa očkovacej schémy.

Charakterizujte vírus osýpok.
Aké sú typické klinické prejavy osýpok?
Aké komplikácie môžu byť spojené s osýpkami?

Respiračný syncyciálny vírus (RSV)

Patogénny potenciál a imunita

RSV patrí do rodu *Pneumovirus*, na rozdiel od ostatných paramyxovírusov nemá hemaglutinín a neviaže sa na kyselinú sialovú, preto nevyžaduje ani prítomnosť neuraminidázy. Vyvoláva lokalizovanú infekciu dýchacích ciest, príznaky sú podmienené imunitným stavom infikovaného, sú odlišné u detí a u pacientov s reinfekciou. Vírus infikuje riasinkový epitel, šíri sa extracelulárne a intercelulárne prostredníctvom fúzie infikovaných buniek a tvorbou syncýcií. RSV nevyvoláva virémiu. Významným imunopatogénnym mechanizmom je predchádzajúca senzibilizácia (prítomnosť špecifických protilátok). Mechanizmus nie je jednoznačne vysvetlený. Prejavuje sa závažným priebehom infekcie u novorodencov, pričom materské protilátky nie sú protektívne. Rovnako špecifická imunizácia vakcináciou bola spojená s výskytom imunopatologických reakcií po infekcii (podobne ako u prvých vakcín proti osýpkam). Slizničné IgA protilátky sú pôsobia krátkodobo. IgG protilátky majú význam pri vzniku infekcie, vzhľadom na intercelulárne šírenie je k eliminácii infekcie potrebná bunková imunita a interferón. Vírus sa vyskytuje v jedinom sérotype. Prekonanie ochorenia nezabráni reinfekcii.



Obr. 190. RSV – príznaky ochorenia u detí.

<https://www.verywellhealth.com/rsv-and-bronchiolitis-2632046>

Ochorenia

Respiračný syncyciálny vírus spôsobuje najčastejšie bronchiolitídu a pneumóniu u detí mladších ako jeden rok. Infekcia vyvoláva tvorbu bunkových syncýcií, dochádza k zúženiu až k úplnej obštrukcii dýchacích ciest. U dospelých sa primoinfekcia aj reinfekcia prejaví príznakmi ochorenia horných dýchacích ciest.

Tabuľka 45. RSV – epidemiológia.

RESPIRAČNÝ SYNCYCIÁLNY VÍRUS	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - veľký obalený virión - inaktivácia vírusu vysušením a kyslým prostredím - prenos vírusu pred nástupom symptómov - asymptomatické vylučovanie vírusu - hostiteľom je človek
Prenos	<ul style="list-style-type: none"> - inhalácia veľkých infikovaných častíc aerosolu z dýchacích ciest
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - deti mladšie ako 1 rok: bronchiolitída, pneumónia - staršie deti: miernejšie príznaky alebo pneumónia - dospelí: reinfekcia, miernejšie príznaky
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - vyskytuje sa na celom svete - sezónny výskyt v zime a na jar
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none"> - imúnny globulín pre deti z rizikovej skupiny - ribavirin- závažné ochorenia u detí

Laboratórna diagnostika a liečba

V priamej diagnostike je možné potvrdiť vírus v biologických vzorkách pomocou PCR, dostupné sú aj imuno fluorescenčné testy a ELISA testy na dôkaz antigénu. Sérologický dôkaz akútneho ochorenia sa robí detekciou špecifických IgM protilátok. Terapia je

symptomatická, prevencia účinnou vakcínou zatiaľ nie je k dispozícii, v závažných prípadoch je možné podať ribavirín.

Kazuistika

11-mesačné dieťa malo nádchu, neutíchajúci kašeľ a horúčku 38°C trvajúcu už štyri dni. Kašeľ sa postupne zhoršoval, dieťa pri kašľaní vydávalo štekavé zvuky. Dieťa bolo rozrušené, pri dýchaní chrčalo. Bolo indikované RTG vyšetrenie krku, ktoré na ľavej strane odhalilo zúženie v subglotickej oblasti.

Ako sa potvrdí diagnóza RSV?

Ako sa RSV prenáša a kedy bolo dieťa nakažlivé?

Aká je liečba a prevencia infekcií vyvolaných RSV?

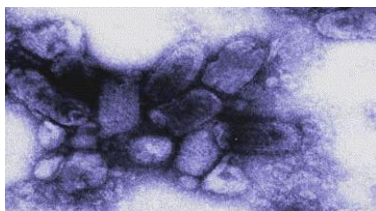
Rhabdovírusy

Medzi rhabdovírusy zaradíme patogény, ktoré vyvolávajú ochorenia u cicavcov, rýb, vtákov a rastlín. Patria sem rody *Vesiculovirus* a *Lyssavirus*. Najvýznamnejší ľudský patogén z tejto skupiny, **vírus besnoty**, je zaradený medzi lyssavírusy.

Vírus besnoty (Rabies virus)

Charakteristika

Vírus besnoty je obalený, má tvar projektilu alebo paličky, génom vytvára jednovláknovú lineárnu nesegmentovanú RNA. Virióny sú citlivé na vonkajšie fyzikálne a chemické vplyvy. Pri teplote +4 °C sa udrží infekčný jeden týždeň, pri teplote pod bodom mrazu aj mesiace. Vysušený materiál v mrazenom stave udrží infekčný vírus aj roky ak bol uskladnený pri teplote 4°C. Vírus sa inaktivuje teplotou 50°C počas 60 minút pôsobenia, teplotou 60 °C počas piatich minút.



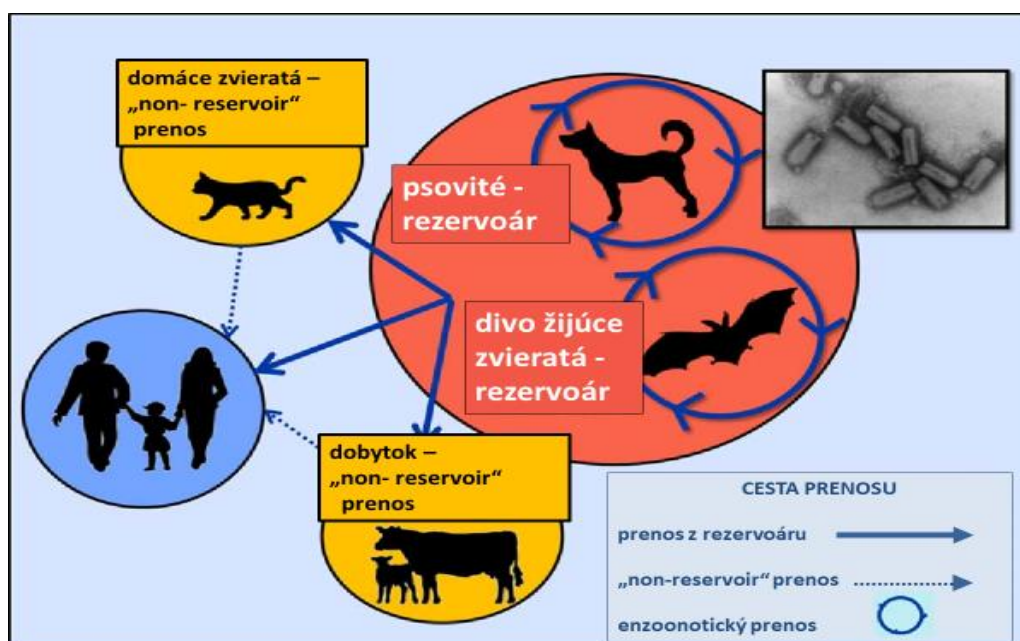
Obr. 191. Vírus besnoty.

<http://www.wadsworth.org/rabies/rpix.htm>

Vírus inaktivuje aj UV žiarenie, tukové rozpúšťadlá, detergenty, lúhy, 1% deoxycholát sodný a trypsin. V roztoku glycerolu vydrží aktívny pri izbovej teplote aj niekoľko týždňov.

Patogénny potenciál a imunita

Cesta prenosu vírusu je priama (pohryzenie) alebo nepriama (konzumácia mäsa infikovaných zvierat, vzdušnou cestou - kvapôčkami slín, predmetmi znečistenými čerstvými slinami besných zvierat). Vírus sa replikuje vo svaloch v miest vstupu (inkubačná fáza), dĺžka inkubácie súvisí s infekčnou dávkou a s lokalizáciou primárneho miesta vstupu infekcie. Najnebezpečnejšie sú pohryzenia v oblasti hlavy, šije a článkov prstov. Po niekoľkých týždňoch až mesiacoch sa vírus dostáva do periférnych nervov a postupuje perineurálne a centripetálne axoplazmou do CNS, kde poškodzuje neuróny hypocampu, predĺženej miechy, sympatických ganglií, thalamu, pyramídové bunky mozgovej kôry a Purkyňove bunky mozog. V cytoplazme veľkých neurónov sa tvoria acidofilné inklúzie, tzv. Negriho telieska, v ktorých sú vírusové častice pripravené opustiť bunku pučaním. Okolo úseku poškodených buniek vznikajú lymfocytárne infiltráty. Nekróza nervových buniek spôsobuje paralýzy, má ireverzibilný charakter, čo spôsobuje smrť chorého. Protilátková odpoveď je indukovaná až v neskorých fázach ochorenia, keď sa vírus šíri z CNS do iných lokalizácií.



Obr. 192. Besnota – cesty prenosu, rezervoáre a náhodní hostitelia.

<https://www.semanticscholar.org/paper/The-Ancient-Curse%3A-Rabies.-Blanton-Wallace/d559e19a8eba17655234850866e1498b8d555670/figure/2>

Ochorenia

Besnota je zoonóza, prvými symptómami sú horúčka, nepokoj, bolesti hlavy a parestézia v mieste uhryznutia. Charakteristická je hydrofóbia (zapríčiňuje ju bolesť pri prehltaní vody), v neurologickej fáze ochorenia je prítomná dezorientácia, halucinácie, asi 60% pacientov má paralýzu, ktorá môže viesť k respiračnému zlyhaniu.

Tabuľka 46. Vírus besnoty – epidemiológia.

VÍRUS BESNOTY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> - typická štruktúra vírusu- projektil - u infikovaných zvierat indukuje agresívne správanie - dlhý inkubačný čas bez príznakov ochorenia
Prenos	<ul style="list-style-type: none"> - zoonóza - rezervoár: divo žijúce zvieratá - vektor: divé zvieratá, neočkované psy a mačky - zdroj vírusu: sliny, aerosol (netopiere v jaskyniach)
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none"> - veterinári - pracujúci so zvieratami - pohryzení ľudia - obyvatelia v krajinách bez vakcinačného programu pre zvieratá
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none"> - vyskytuje sa na celom svete - výskyt nie je sezónne viazaný
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none"> - vakcinačný program pre domáce zvieratá - vakcinácia pre exponované osoby

Laboratórna diagnostika a liečba

Typický klinický obraz a anamnestické údaje o pohryzení alebo kontakte s infikovaným zvieratkom podporujú diagnostiku ochorenia. V priamej diagnostike je možné potvrdiť vírusové antigény v mozgu a v koži (PCR), izolácia vírusu umožní identifikovať Negriho telieska v infikovaných bunkách. Vzhľadom na dlhý inkubačný čas sa aktívna imunizácia používa v postexpozíčnej terapii. Neliečená besnota je smrteľná.



Obr. 193. Negriho telieska.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Rabies_encephalitis_Negri_bodies_PHIL_3377_lores.jpg

Kazuistika

V izbe 3-ročného dieťaťa našli lietieť netopiera, bol tam pravdepodobne celú noc. Dieťa nemalo žiadne známky pohryzenia alebo poškrabania. Netopiera ráno chytili a vypustili von. O tri týždne neskôr sa u dieťaťa prejavili zmeny v správaní: začalo byť podráždené, zlostné a precitlivené. Následne došlo k progresii, dieťa bolo zmätené, nekontrolovateľne sa triaslo. Nakoniec upadlo do kómy a zomrelo na respiračné zlyhanie.

Charakterizujte vírus besnoty.
Akým spôsobom sa vírus besnoty prenáša?
Aká je dostupná liečba besnoty u ľudí?

Filovírusy

Vírus Ebola
Vírus Margburg

Charakteristika

Genóm filovírusov tvorí jednovláknová RNA s negatívnou polaritou, ktorá kóduje sedem proteínov. Nukleokapsida má helikálnu symetriu, je umiestnená v obale, ktorý obsahuje jeden glykoproteín. Filovírusy majú charakteristický vláknitý tvar. Vyvolávajú závažné, často smrteľné hemoragické horúčky, endemicky sa vyskytujú v Afrike.



Obr. 194. Vírus Ebola.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3f/Ebola_virus_em.png

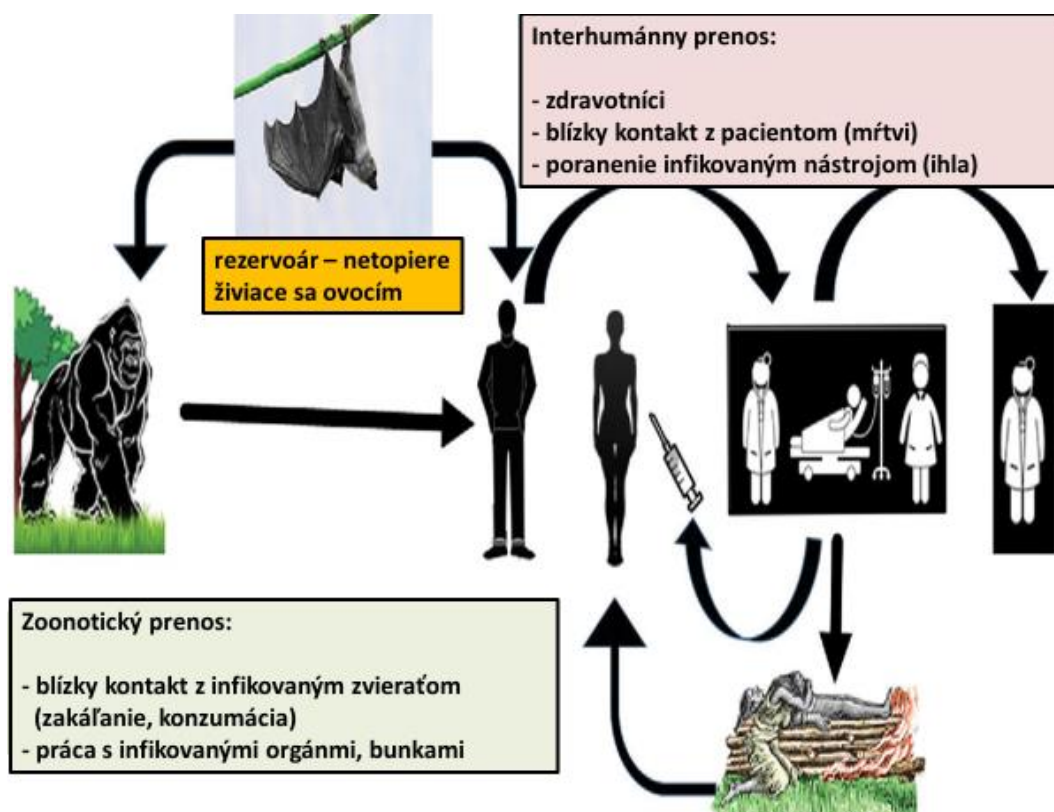
Patogénny potenciál a imunita

Filovírusy sa replikujú v monocytoch, v makrofágoch, v dendritických bunkách, ale aj v iných bunkách. Replikácia vyvoláva masívnu produkciu cytokínov („cytokínová

búrka“). V parenchymatóznych orgánoch (pečeň, slezina, lymfatické uzliny, pľúca) sa vyvíja nekróza, prítomné sú eozinofilné cytoplazmatické inklúzie. Vírusové glykoproteíny sú zodpovedné za poškodenie endotelových buniek, výsledkom sú ťažké krvácavé stavy. Glykoproteíny vírusu inhibujú aktiváciu neutrofilov, blokujú funkcie protilátok a interferónu.

Ochorenia

Vírusy Ebola a Marburg vyvolávajú hemoragické horúčky s edémom a hypovolemickým šokom, ochorenia sa vyskytujú endemicky alebo ako laboratórne nákazy. Prenos infekcie vírusu Marburg a Ebola je prostredníctvom kontaktu s telesnými tekutinami z infikovaných opíc v laboratórnych podmienkach, následne aerosolom. Zdrojom infekcie môžu byť aj divo žijúce zvieratá, netopiere, známy je aj interhumánny prenos. V endemických oblastiach Afriky (Sudán, Zair) infekcie vírusom Ebola môžu prebiehať inaparentne (18% obyvateľstva má prítomné špecifické protilátky).



Obr. 195. Ebola – cesty prenosu.

<https://www.semanticscholar.org/paper/The-threat-of-Ebola%3A-an-update.-Mishra/06248537996be68fbc454066ed9026723990b3f/figure/3>

Laboratórna diagnostika a liečba

Priama diagnostika je možná na základe izolácie vírusu na tkanivových kultúrach (vero bunky pre vírus Marburg), inokuláciou zvieratám (Ebola) alebo imuno fluorescenciou. Dôkaz špecifických protilátok sa robí pomocou ELISA testov. Pri práci v laboratóriu platí 4. ochranný stupeň. Liečba je založená na podávaní interferónu a séra so špecifickými protilátkami.

Kazuistika

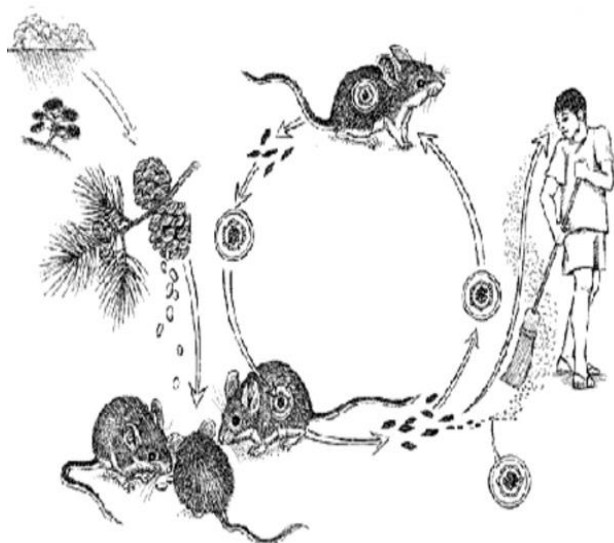
Bertoli a kol. opísali v roku 2016 prípad zdravotníka, ktorý sa po dlhodobom pobyte v Sierra Leone, kde pracoval ako dobrovoľník, vrátil domov do Talianska. Dva dni po návrate začal pociťovať bolesť hlavy, bol slabý, unavený, mal bolesti svalov a mierne zvýšenú teplotu, príznaky sa postupne zhoršovali, teplota sa zvýšila, objavilo sa krvácanie a gastrointestinálne problémy. Na ďalší deň bol prevezený a hospitalizovaný na jednotke pre infekčné choroby, kde bol izolovaný. Devätnásť osôb, ktoré s ním prišli do kontaktu, bolo monitorovaných denne počas 21 dní, u žiadnej osoby sa neobjavili klinické príznaky.

Ktoré vírusy mohli spôsobiť opísané klinické príznaky.
Aké sú všeobecné charakteristiky filovírusov?
Ktoré fakty by mohli naznačovať, že sa jedná o Ebolu?
Aké sú možnosti diagnostiky a liečby hemoragických horúčok?

Bunyavírusy

Charakteristika

Vírusy z tejto čeľade predstavujú skupinu asi 200 obalených RNA vírusov so segmentovaným genómom. Obal vírusu obsahuje dva glykoproteíny. Niektoré vírusy sú prenášané hmyzom (arbovírusy), sú endemické podľa výskytu hmyzieho vektora (vírus horúčky údolia Rift, LaCross vírus). Spôsobujú systémové ochorenia obvykle s postihnutím mozgu, hemorágiami a nekrózou obličiek. Čeľaď *Bunyaviridae* zahŕňa rody: *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Uukuvirus*.

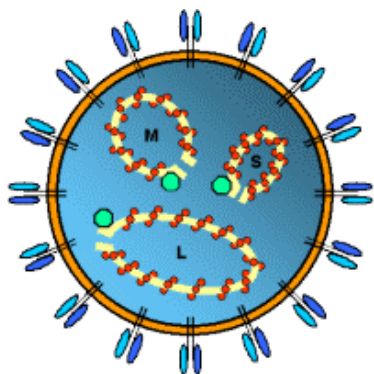


Obr. 196. Prenos Hantavírusu.

<https://www.slideshare.net/doctorrao/hanta-virus>

Patogénny potenciál a imunita

Bunyavírusy sú prenášané hmyzom (okrem Hantavírusov), po vstupe do krvi vyvolávajú virémiu. Progresia ochorenia vedie k sekundárnej virémii a k následnej diseminácii vírusových partikul do cieľových orgánov (centrálny nervový systém, pečeň, obličky a endotel ciev). Vírusy indukujú tvorbu interferónu, ochorenia vznikajú ako výsledok imunitnej odpovede v kombinácii s patogenetickým pôsobením vírusu. Arenavírusy spôsobujú perzistentnú infekciu – infikujú makrofágy, ktoré uvoľňujú mediátory s účinkom na membránu buniek a steny ciev. Poškodenie tkaniva je spôsobené imunopatologicky – účinkom reakcie T buniek. Hantavírusy nie sú prenášané hmyzom, šíria sa interhumánne aerosolom.



Obr. 197. Štruktúra bunyavírusov – tri helikálne segmenty nukleokapsidy (L-veľký segment, M-stredný segment, S-malý segment).

<http://www.stanford.edu/group/virus/bunya/2004mendez/bunyaviridae-morphology.html>

Ochorenia

Bunyavírusy vyvolávajú horúčkovité ochorenia, encefalitídu a erytém (vírus kalifornskej encefalitídy, La Cross vírus). Phlebovírusy sú zodpovedné za vznik hemoragickej horúčky, encefalitídy, konjunktivitídy a myozitídy (Rift Valley horúčka). Hantavírusy spôsobujú hemoragické horúčky s postihnutím obličiek, pľúcny edém až respiračné zlyhanie. Ochorenie je väčšinou smrteľné.

Tabuľka 47. Bunyavírusy – epidemiológia.

BUNYAVÍRUSY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none">- vírus sa množí v bunkách cicavcov a článkonožcov- infikujú vajíčka článkonožcov a zabezpečia si tak prežitie cez zimu
Prenos	<ul style="list-style-type: none">- komáre <i>Aedes</i> a ich vajíčka- hantavírusy: aerosolom z moča infikovaných hlodavcov
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none">- osoby žijúce v miestach výskytu infikovaných komárov a hlodavcov- pracovníci v pralesoch
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none">- vyskytuje sa endemicky- výskyt je vyšší v letných mesiacoch
Možnosti kontroly/prevenie	<ul style="list-style-type: none">- eliminácia vektorov

Laboratórna diagnostika a liečba

V priamej diagnostike sa využíva metóda PCR na identifikáciu vírusovej RNA a neutralizačný test. Vyšetrenie hladín IgM je vhodné na potvrdenie akútnej infekcie. Na identifikáciu vírusov počas virémie sa využíva ELISA test. Špecifická terapia nie je dostupná.

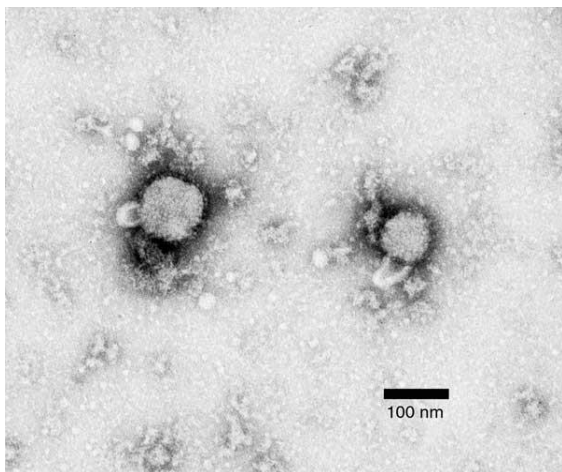
Arenavírusy

Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy (LCM)

Vírusy hemoragických horúčok (Lassa virus, Junin virus, Machupo virus)

Charakteristika

Arenavírusy sú obalené vírusy, ktoré obsahujú dva cirkulárne segmenty RNA (segmenty L, S), v elektrónovom mikroskope majú tvar pavúka. Ochorenia spôsobené týmito vírusmi sú zoonózy (vyvolávajú perzistentné infekcie u hlodavcov).



Obr. 198. Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy – elektrónová mikroskopia.

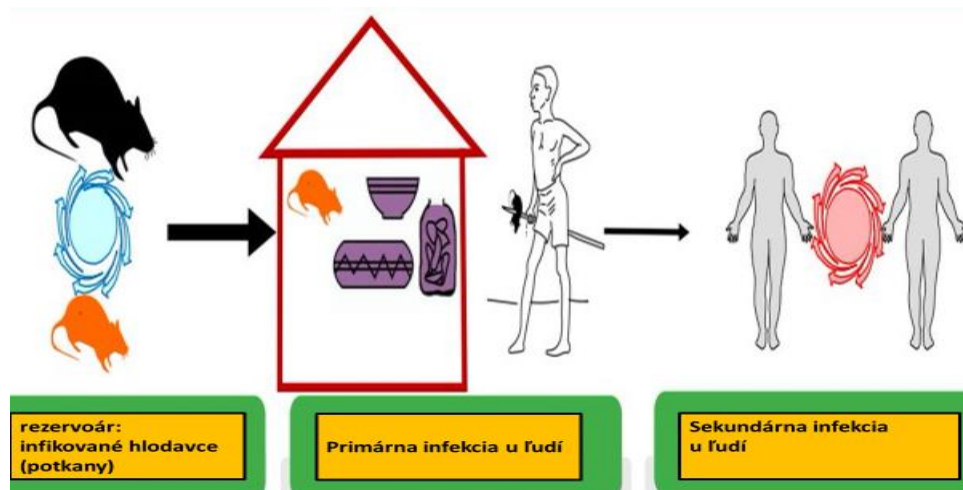
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b9/Lymphocytic_choriomeningitis_virus.jpg

Patogénny potenciál a imunita

Arenavírusy spôsobujú perzistentnú infekciu, infikujú makrofágy, ktoré uvoľňujú mediátory s účinkom na membránu buniek a steny ciev. Poškodenie tkaniva je spôsobené imunopatologicky (účinnosť reakcie T- buniek).

Ochorenia

Lymfocytárna choriomeningitída prebieha buď ako chronická meningitída s prevahou lymfocytov (typická je perivaskulárna infiltrácia neurónov a meningov), alebo ako horúčkovité ochorenie s myalgiami. **Hemoragické horúčky** sú zoonózy, vyskytujú sa v endemických oblastiach tropickej Afriky a Južnej Ameriky, prameňom nákazy je perzistentná infekcia hlodavcov. Ochorenie sa prejaví ako horúčka s poruchou koagulácie, vznikom nekróz (pečeň, slezina), petéchií a viscerálnych hemorágií. Ochorenie je letálne až pre 50% infikovaných.



Obr. 199. Lassa horúčka – prenos.

<https://twitter.com/whoafro/status/968867485373157377?lang=nl>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika ochorení je založená na charakteristickej klinickej manifestácii a na epidemiologickej anamnéze. Laboratórne je možný priamy dôkaz vírusov z výteru hrdla, u Lassa horúčky aj z moču, nepriamo dôkazom špecifických protilátok. Pri práci s infekčným materiálom platí ochranný stupeň 3 (pre LCM) a stupeň 4 pre vírusy hemoragických horúčok – vysoké riziko laboratórnej nákazy. Liečba je hlavne podporná, v liečbe horúčky Lassa sa používa ribavirin.

2.2.4 Neobalené vírusy s dvojvláknovou RNA

Reovírusy

Charakteristika

Pomenovanie tejto skupiny vírusov je odvodené od anglického označenia „respiratory, enteric, orphan“. Reoviridae sú neobalené vírusy s dvojvrstvovou proteínovou kapsidou, genóm je tvorený dvojvláknovou RNA. Vírusy sú rezistentné voči detergentom, odolávajú kyslému pH a vysušeniu. Replikujú sa v cytoplazme, uvoľňujú sa po lýze hostiteľských buniek. V elektrónovom mikroskope majú typický vzhľad „kolesa z voza“. Do čeľade *Reoviridae* patria rody: *Rotavirus*, *Orbivirus*, *Coltivirus* a *Orthoreovirus*.

Tabuľka 48. Reovírusy- ochorenia.

Vírus	Ochorenie
Orthoreovírus	- mierne infekcie horných dýchacích ciest - gastrointestinálne infekcie - biliárna atrezia
Orbivirus/Coltivirus	- zoonózy: horúčkovité ochorenie s bolesťou hlavy a svalou
Rotavirus	- ochorenie gastrointestinálneho traktu (pravdepodobne aj respiračné infekcie)

Rotavírusy

Patogénny potenciál a imunita

Rotavírusy sa prenášajú oro-fekálnou cestou a pravdepodobne aj respiračnou cestou. Vírus má proteolytickú aktivitu, v gastrointestinálnom trakte sa vyskytuje pri replikácii ako infekčné subvirálne teliesko, ktoré infikuje bunky. Vírus sa replikuje, agreguje a bunku opúšťa po jej lýze. Výsledkom je oploštenie klkov, mononukleárnu infiltráciu lamina propria, zábranu absorpcie vody, hnačku, u niektorých pacientov aj vracanie a zvýšenú teplotu.

Ochorenia

Rotavírusy sú hlavnou príčinou gastroenteritíd, hlavne u detí. Inkubačný čas je 48 hodín. Medzi hlavné klinické príznaky infekcie patrí hnačka, vracanie, horúčka a dehydratácia.

Laboratórna diagnostika a liečba

V elektrónovom mikroskope sú viditeľné vírusové častice (typický vzhľad kolesa z voza). Na rýchlu diagnostiku slúži dôkazom antigénu v stolici (latexová aglutinácia). Nepriama sérologická diagnostika (dôkaz protilátok) je menej významná. Terapia je symptomatická. V prvých hodinách infekcie je potrebná náhrada tekutín, bezmliečna strava. Ochorenie je samolimitujúce. Proti rotavírusom je dostupná nová vakcína, registrovaná vo februári 2006. Pôvodná vakcína bola stiahnutá pre výskyt invaginácie čreva u niektorých očkovaných (súvislosť sa nepotvrdila).

Tabuľka 49. Rotavírusy- epidemiológia.

ROTAVÍRUSY	
Vlastnosti	- odolný voči prostrediu - prežíva v gastrointestinálnom trakte - veľké množstvo vírusu je vylučované stolicou
Prenos	- tolica - najmä v zariadeniach dennej starostlivosti
Riziková skupina	Rotavírus skupina A: deti mladšie ako 2 roky, - staršie deti, dospelí: miernejšie prejavy ochorenia - podvyživené osoby v oblastiach s nízkym hygienickým štandardom Rotavírus skupina B: Čína, všetky vekové kategórie
Geografický výskyt/obdobie	- vyskytuje sa celosvetovo - jeseň, zima, jar
Možnosti kontroly/prevencie	- hygiena rúk - izolovanie chorých - živá atenuovaná vakcína

Orthoreovírusy

Patogénny potenciál a imunita

Táto skupina vírusov vyvoláva u ľudí len mierne prebiehajúce ochorenia. Infekčné subvirálne partikuly (ISVP) sa viažu na M-bunky v tenkom čreve, ktoré prenesú vírusové častice do Peyerových plakov. Vírus sa replikuje, vzniká virémia. Orthoreovírusy sa vyskytujú v troch antigénnych typoch (1, 2, 3), ich odlíšenie je možné na základe neutralizačného alebo hemaglutinačného inhibičného testu. Všetky sérotypy majú spoločný, kplement - fixujúci antigén.

Ochorenia

Infekcia môže prebiehať asymptomaticky, alebo ako nádcha, mierne ochorenie horných dýchacích ciest a gastrointestinálneho traktu

Laboratórna diagnostika a liečba

Priama identifikácia vírusu sa robí pomocou PCR, izoláciou vírusu. Nepriama diagnostika je založená na detekcii špecifických protilátok. Liečba obvykle nie je potrebná, ochorenie je samolimitujúce.

Orbivírusy a Coltivírusy

Patogénny potenciál a imunita

Coltivírusy infikujú erytroidné prekursorové bunky, ostávajú vo vnútri buniek. Vzniká virémia, ktorá perzistuje týždne až mesiace. Infekcia endotelu ciev vedie k závažným hemoragickým prejavom, hypotenzii a k šoku. Orbivírusy sú prenášané zo zvierat na človeka hmyzom (kliešte, komáre blchy), infikujú bunky cievneho endotelu.

Ochorenia

Coltivírusy spôsobujú Koloradskú kliešťovú horúčku. V klinickom obraze dominuje náhly vzostup teploty, bolesti hlavy, fotofóbia, myalgia, artralgia a letargia. Horúčka má bifázický priebeh, častá je aj konjunktivitída, lymfadenopatia a zväčšenie pečene a sleziny. Typickým nálezom je pokles počtu neutrofilov a lymfocytov. Orbivírusy primárne infikujú zvieratá, u ľudí zriedkavo vyvolávajú Oklahomskú kliešťovú horúčku.

Laboratórna diagnostika a liečba

Najrýchlejšou metódou na potvrdenie infekcie je detekcia vírusových antigénov na povrchu erytrocytov pomocou imunofluorescencie. Špecifické IgM protilátky sú dôkazom akútnej infekcie, ich stanovenie je možné pomocou imunofluorescencie, komplement-fixačnej reakcie alebo ELISA testom. Špecifická terapia nie je dostupná, ochorenie je samolimitujúce, vhodná je podporná liečba.

Kazuistika

Deti boli na školskom výlete, zo 107 účastníkov ochorelo 47 detí vo veku 11-12 rokov. Ukázalo sa, že zdrojom nákazy bol jeden z vedúcich, ktorý mal príznaky gastroenteritídy už na začiatku výletu. Počas piatich dní sa u chorých detí prejavili nasledujúce príznaky: hnačky a vracanie, horúčka, nevoľnosť, únava, bolesti brucha a hlavy. Vyšetrením vzoriek sa potvrdilo, že vyvolávateľom ochorenia bol rotavírus zo skupiny A, sérotyp G2, ktorý je zodpovedný za vznik enterovírusovej gastroenteritídy u dospelých.

Charakterizujte rotavírusy.

Ako sa prenáša rotavírusová infekcia?

Aké sú možnosti diagnostiky, liečby a prevencie rotavírusových infekcií?

OTÁZKY

1. Aká je štruktúra vírusu chrípky?
2. Aké sú princípy označovania kmeňov chrípkových vírusov?
3. Vysvetlite princíp antigénneho šiftu a antigénneho driftu u vírusov chrípky.
4. Charakterizujte paramyxovírusy. Ktoré vírusy zaradíme do tejto skupiny?
5. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia mumpsu?
6. Ako prebieha infekcia vírusom osýpok?
7. Aké infekcie vyvoláva RSV?
8. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia besnoty?
9. Ako sa diagnostikuje a lieči besnota?
10. Charakterizujte filovírusy.
11. Aké ochorenia vyvolávajú filovírusy?
12. Ktoré vírusy zaradíme medzi bunyavírusy a aké ochorenia vyvolávajú?
13. Ktoré vírusy zaradíme medzi arenavírusy a aké ochorenia vyvolávajú?
14. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia rotavírusových infekcií?
15. Aká je laboratórna diagnostika rotavírusových infekcií?
16. Aké infekcie vyvolávajú coltívírusy a orbivírusy?

2.2.5 Retrovírusy

Lentivírusy: HIV 1
HIV 2
HIV 0

Onkovírusy: HTLV 1 - kožný T lymfóm
HTLV 2 - vlasovitá T leukémia
HTLV 5 - T lymfóm a leukémia

(HTLV - z angl. Human T-lymphotropic virus, ľudský T-lymfotropný vírus)

(HIV - z angl. Human immunodeficiency virus – vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti).

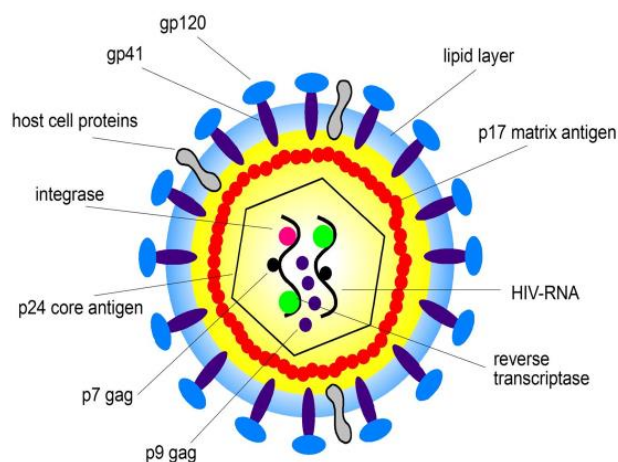
Retrovírusy sú obalené RNA vírusy, na vonkajšej strane obalu sa nachádzajú glykoproteínové výbežky, na vnútornej strane obalu je vrstva m-proteínu. Retrovírusy obsahujú reverznú transkriptázu, ktorá vytvára cirkulárnu DNA z lineárnej RNA. Táto DNA má schopnosť integrovať sa do genómu hostiteľskej bunky. Onkovírusy majú potenciál transformovať bunky a spôsobiť leukémiu, sarkómy a karcinómy. Lentivírusy atakujú T-lymfocyty a likvidujú hostiteľskú imunitu.

Lentivírusy

HIV

Charakteristika

HIV je obalený vírus s vírusovým povrchovým glykoproteínom (gp 120), ktorý rozpoznáva CD4 receptor T- helper buniek. Glykoproteín 120 je antigénne variabilný. Genóm vírusu je zložený z dvoch pozitívnych vlákien RNA. Po vstupe do hostiteľskej bunky sa transláciou RNA vytvorí polyproteín, ktorý je následne rozdelený na jednotlivé komponenty špecifickou proteázou, ktorá je cieľom niektorých antiretrovirotík. V priebehu replikácie reverzná transkriptáza použije tRNA ako primér pre syntézu DNA, vytvorí DNA/RNA hybrid a následne degraduje RNA vlákno a syntetizuje novú DNA, čím sa vytvorí DNA dvojvlákno, ktoré sa cirkulárne uzavrie a integruje do hostiteľského genómu. Po replikácii vírus opúšťa bunku pučaním.



Obr. 200. Štruktúra HIV-1.

<https://www.hivbook.com/tag/structure-of-hiv-1/>

Patogénny potenciál a imunita

Vírus sa prenáša krvou a telesnými tekutinami (kontaminovanými krvou) najčastejšie homosexuálnym stykom, inokuláciou kontaminovanými nástrojmi (intravenózne užívanie drog), vertikálne (z matky na dieťa). Má špecifickú afinitu k CD4 lymfocytom (T- helper). Po infekcii môže zostať latentný mnoho rokov. Infikované T-bunky však strácajú svoju schopnosť imunitne reagovať, čo vedie k postupnému poklesu humorálnej a bunkovej imunity a k nástupu klinického ochorenia. Pri zániku populácie Th buniek sa uplatňujú nasledujúce mechanizmy:

- **priamy cytopatický účinok** spôsobený väzbou nových viriónov na susedné CD4 molekuly, hromadením neintegrovaných vírusových DNA-transkriptov v jadre alebo apoptózou buniek vyvolanou väzbou gp120 na CD4
- **lytický účinok** špecifických cytotoxických lymfocytov na infikované bunky
- **fúzia infikovaných lymfocytov so zdravými Th bunkami** (väzba gp 120 na CD4), jedna infikovaná bunka môže vytvoriť syncícium až s päťdesiatimi neinfikovanými Th bunkami.

Imunita hostiteľa zohráva podstatnú úlohu v eliminácii, prípadne v supresii vírusu. Schopnosť vírusu zostať latentným, ako aj časté antigénne zmeny gp120 (antigénny drift), oslabujú možnosti hostiteľovej imunity.

Tabuľka 50. Charakteristika HIV-1 a HIV-2.

Charakteristika	HIV - 1	HIV - 2
Infekčnosť	vysoká	nízka
Virulencia	vysoká	nízka
Heterosexuálny prenos	vyšší	nižší
Vertikálny prenos	20% - 25%	≤ 5%
Prevalencia	celosvetovo	západná Afrika
Pôvod	šimpanz	mangabey dymový
Čas do nástupu AIDS	≤ 10 rokov	≥ 20 rokov

https://www.researchgate.net/figure/Comparison-of-HIV-1-and-HIV-2-characteristics_tbl1_236039425

Ochorenia

AIDS (angl. acquired immunodeficiency syndrome), syndrom získaného deficitu imunity

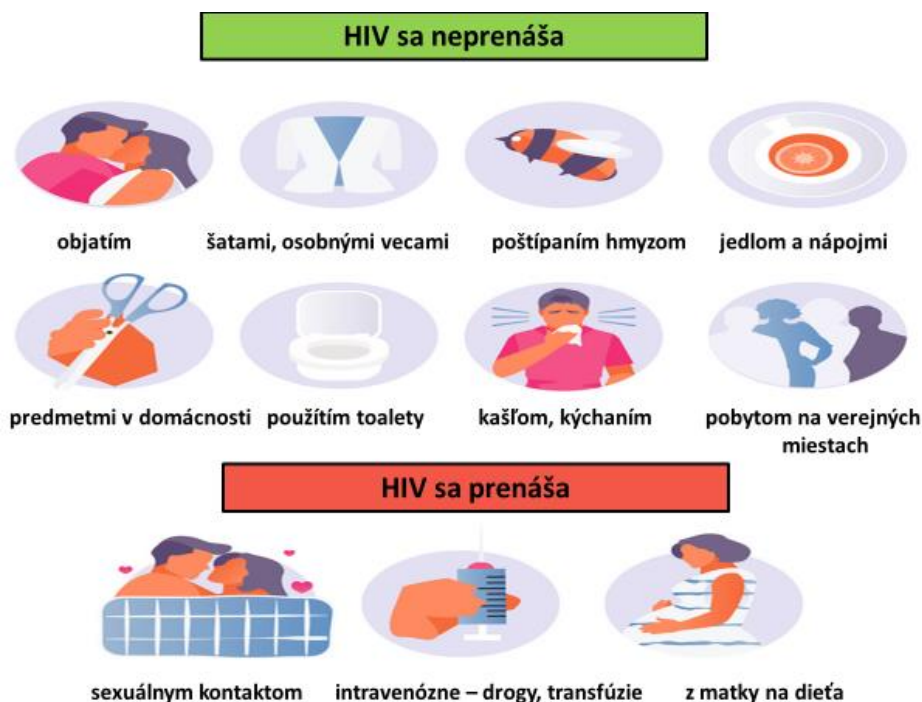
AIDS je konečné štádium ochorenia spôsobeného vírusom HIV, pre ktoré je charakteristická strata funkcií imunitného systému. Človek sa tak stáva vnímavým voči veľkému množstvu ďalších infekcií, ktoré postihnutý imunitný systém nedokáže zvládnuť a nádorovým ochoreniam. Vznik ochorenia je charakterizovaný tvorbou nových generácií HIV, vymiznutím protilátok proti HIV, ktoré sa vytvorili po infekcii a neexistenciou Th buniek. Priebeh ochorenia môžeme rozdeliť do štyroch štádií:

Prvé štádium – akútny retrovírusový syndróm, objavuje sa 2 – 3 týždne po infekcii. Príznaky sú podobné ako pri chrípke alebo mononukleóze s horúčkou, bolesťami svalov, únavou, zdurenými lymfatickými uzlinami na krku a v slabinách a nechutenstvom. Príznaky tohto štádia väčšinou ustúpia asi za mesiac aj bez liečby.

Druhé štádium – HIV infekcia bez symptómov – bezpríznakové (latentné) nosičstvo, môže trvať aj niekoľko rokov. Počas tohto štádia sa vírus pomaly množí v bunkách ľudského tela a postupne oslabuje imunitný systém.

Tretie štádium – HIV infekcia so symptómami – dlho pred vypuknutím samotnej choroby AIDS sa objavujú rôzne príznaky a opakujúce sa infekcie (zväčšenie lymfatických uzlín, strata hmotnosti, únava, horúčky, potenie, opakujúce sa kvasinkové infekcie vo vagíne, ústach, pažeráku, časté výsevy genitálneho herpesu).

Štvrté štádium – AIDS – najhoršie a najťažšie štádium, ide o vlastné ochorenie AIDS; oslabený imunitný systém zlyhá a organizmus tak podlieha širokému spektru pridružených infekcií a neobvyklých nádorov sprevádzanými rôznymi príznakmi (vysoké horúčky, výrazná strata hmotnosti, slabosť, únava, pokles celkovej aktivity, dlhotrvajúce hnačky, poškodenie nervovej sústavy)

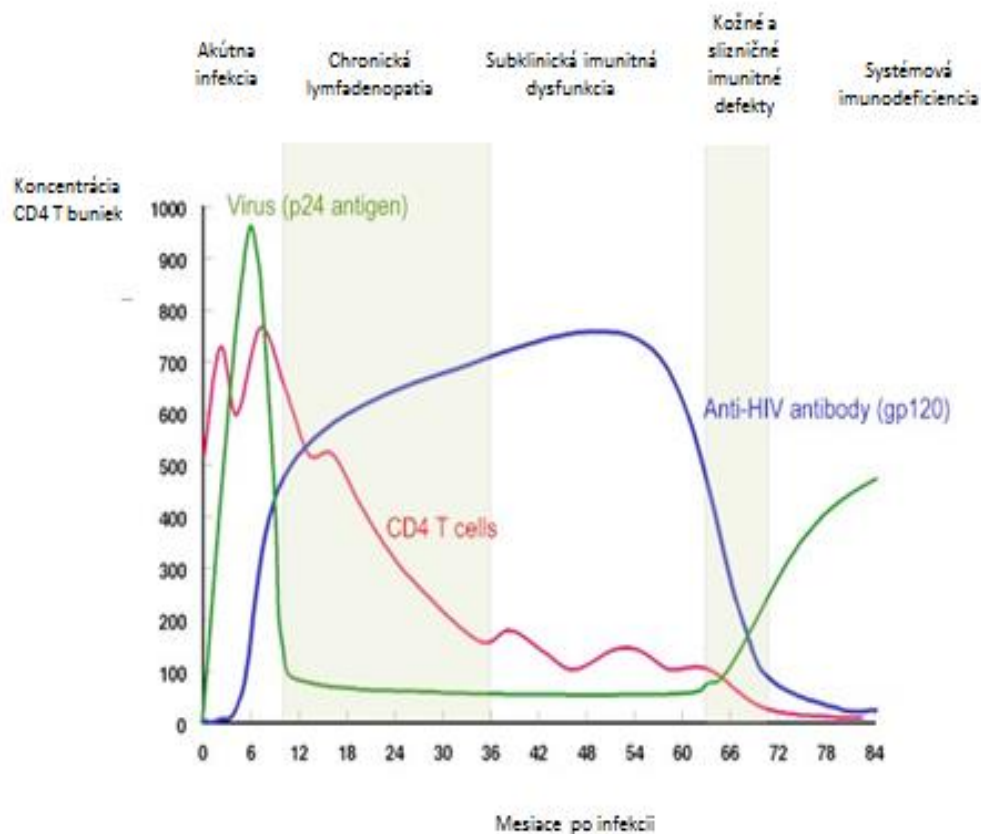


Obr. 201. Prenos HIV.

<https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/ways-hiv-transmission-vector-24917599>

Laboratórna diagnostika a liečba

Laboratórne vyšetrenie pre diagnostiku infekcie HIV je založené predovšetkým na dôkaze špecifických protilátok proti HIV a vírusovému antigénu p24 v krvi. Tieto protilátky sa objavujú prakticky u všetkých infikovaných osôb do 3 týždňov až 3 mesiacov po získaní infekcie. Krátko po infekcii preto môže byť výsledok testu negatívny. Z tohto dôvodu je vhodné test po určitej dobe zopakovať. Ak je výsledok základného testu opakovane pozitívny, vzorka sa označí ako reaktívna a musí sa potvrdiť a overiť ďalšími nadstavbovými testami (konfirmácia metódou Western Blot). U novorodencov eliminácia materských protilátok a prípadná následná tvorba protilátok predlžuje možnosť vytvorenia diagnostických hladín protilátok na 18 mesiacov. Špecifická terapia je potrebná, používa sa kombinácia antivirov, ktoré účinkujú na rôznych úrovniach. Sú to inhibítory reverznej transkriptázy (nukleozidové: Retrovir – zidovudine, didanosin, zalcitabin, stavudin, lamivudin a non-nukleozidové: nevirapin, delavirdin) a inhibítory proteázy. Napriek obrovskému úsiliu nie je vakcína k dispozícii, používa sa imunoprofylaxia na podporu imunity.



Obr. 202. Infekcia vírusom HIV – koncentrácia CD4 T buniek a vývoj protilátkovej odpovede.

http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/hiv_time_course.jpg

Kazuistika

32-ročný muž, ktorý v minulosti intravenózne užíval heroín, pri návšteve lekára udával, že sa cíti unavený a má bolesti hrdla. Príznaky trvali asi dva týždne, lekár po vyšetrení zistil, že sú podobné príznakom pri mononukleóze, poučil pacienta a poslal ho do domáceho ošetrovania. Muž znova navštívil lekára po troch rokoch, udával nočné potenie, mal horúčku a infekciu očí. Vyšetrenia potvrdili prítomnosť retinitídy vyvolanej cytomegalovírusom a bola diagnostikovaná pneumónia spôsobená *Pneumocystis*. Počet CD4 T-lymfocytov bol menej ako 200/ μ l. Pacientovi bola indikovaná liečba antiretrovirotikami.

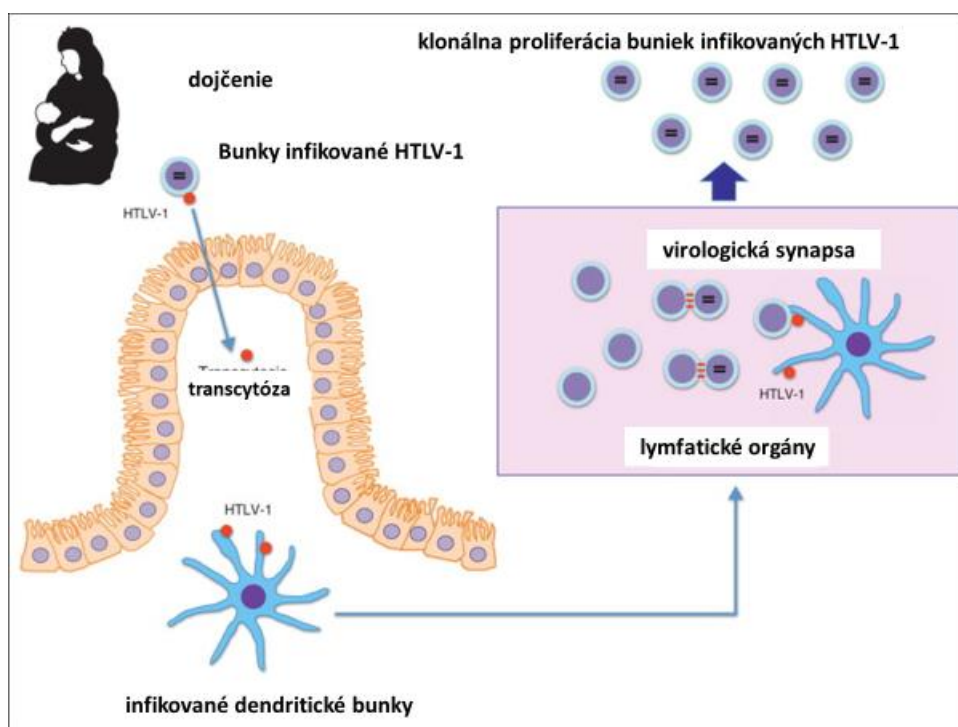
Aké laboratórne testy sa používajú na identifikáciu HIV?

Opíšte replikáciu vírusu HIV.

Ako sa prejaví ochorenie AIDS?

Patogénny potenciál a imunita

HTLV-1 sa prenáša bunkami počas transfúzie, sexuálnym kontaktom, materským mliekom. Infikuje T_H bunky a aj ostatné T-lymfocyty. Aj keď vírus indukuje polyklonálne množenie T-lymfocytov, T-bunková leukémia dospelých (ATL) je obvykle monoklonálna. Prítomnosť protilátok znižuje expresiu vírusových antigénov, a tento proces môže viesť k blokovaniu aktivity bunkami sprostredkovanej imunity. HTLV-2 bol izolovaný pri atypických formách vlasatej (hairy cell) leukémie, HTLV-5 bol izolovaný z malígneho kožného lymfómu.



Obr. 203. Prenos HTLV-1 z matky na dieťa.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625713001466>

Ochorenia

Infekcia HTLV-1 je obvykle asymptomatická, ale môže spôsobiť malígnu T-lymfocytárnu leukémiu dospelých (ATL – angl. adult T-cell leukemia). Ide o neopláziu T_H CD4 buniek, ktorá môže byť akútna alebo chronická, ďalej je prítomná leukocytóza, kožné lézie. Ochorenie je fatálne, pacienti umierajú do jedného roka.

Laboratórna diagnostika a liečba

V diagnostike sa využívajú testy ELISA na detekciu špecifických antigénov v krvi, na detekciu vírusovej RNA sa používa PCR. V nepriamej diagnostike sa stanovujú špecifické protilátky (ELISA). V terapii sa osvedčilo podanie AZT v kombinácii s interferónom α .

1. Ktoré vírusy zaradujeme medzi retrovírusy?
2. Aké sú základné charakteristiky vírusu HIV?
3. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia AIDS?
4. Aká je laboratórna diagnostika infekcie vyvolanej HIV?
5. Ktoré vírusy zaradujeme medzi onkovírusy a aké ochorenia tieto vírusy vyvolávajú?

2.3 Vírusy hepatitíd - zhrnutie

Vírusy hepatitídy spôsobujú infekčné ochorenie pečene prejavujúce sa zápalom a nekrózou. Infekcia môže prebiehať od inaparentného ochorenia až po chronické ochorenie pečene s vývojom cirhózy prípadne karcinómu.

Vírus hepatitídy A (HAV) patrí do skupiny picornavírusov. Vírus sa šíri fekálno - orálnou cestou. Do organizmu sa dostáva zažívacím traktom, odoláva žalúdočnej kyseline, replikuje sa v čreve, krvou sa šíri do pečene, infikuje hepatocyty, ktoré sú cieľovými bunkami. HAV je detekovateľný v stolici v období inkubačného času, ešte pred vzostupom hepatálnych enzýmov a nástupom patologických zmien v pečeni. Týždeň po infikovaní sú detekovateľné IgM protilátky, IgG protilátky sa detekujú neskôr – na konci 3 týždňa infekcie. Protilátky odstránia vírus z organizmu prostredníctvom komplementu a ADCC. Cytotoxicita je tiež jedným z mechanizmov imunopatogénnych prejavov, nikdy však neprechádzajú do chronického štádia. V praxi sa používa sérologické stanovenie špecifických protilátok. Testy sú Ig-total (IgM a IgG spolu). Tieto testy sú citlivejšie na detekciu IgM. Preto sa pri negatívnom výsledku Ig-total vylučuje akútna infekcia, ale pacient je v riziku. Pri pozitívnom výsledku Ig-total sa vyšetruje IgM, aby bolo možné potvrdiť akútne ochorenie – v prípade positivity IgM, alebo špecifickú imunitu – v prípade IgM negativity. Pozitivita Ig-total bola v takom prípade spôsobená frakciou IgG.

Terapia je symptomatická. Špecifická prevencia je dostupná (inaktivovaná vakcína). Existuje hyperimúnny preparát na pasívnu imunizáciu a používa sa aj normálny gamaglobulín v profylaxii ochorenia. Ich použitie je úspešné pri aplikácii čo najskôr po infikovaní.

Vírus hepatitídy B (VHB) obsahuje cirkulárnu čiastočne dvojvláknovú DNA. (Z 3200 nukleotidov je 600 až 1200 oblastí s obsahom jednovláknovej DNA). Vírus obsahuje DNA dependentnú DNA polymerázu a reverznú transkriptázu a replikujú sa cez RNA medzistupeň. VHB obsahuje niekoľko antigénov, ktoré spolu s protilátkami proti nim majú diagnostický význam.

HBsAg – povrchový antigén

HbcAg – vnútorný antigén

HbeAg – antigén obalu, je súčasťou toho istého polypeptidu kapsidy ako HBcAg.

VHB sa prenáša obvykle parenterálne (krvné transfúzie, kontaminové ihly u užívateľov drog, vertikálny prenos). Vírus sa replikuje hepatocytoch. Na rozdiel od VHA môže spôsobiť aj chronickú a perzistentnú infekciu. Infekcia v detstve častejšie vyústi do stavu chronického nosičstva a perzistentnej infekcie s možným vývojom do cirhózy alebo karcinómu pečene. Niektoré príznaky sú podmienené imunopatogénnymi reakciami. Protilátky a bunkami sprostredkovaná imunita sú indukované v skorých fázach infekcie, ale nie sú vždy protektívne a pravdepodobne súvisia s autoimunitnou odpoveďou. Poškodenie pečene môže súvisieť s imunitnou reakciou, nadmerná tvorba

cirkulujúcich imunokomplexov (protilátky a HbsAg) sa môže prejavovať artritídou, vyrážkou.

Typy infekcie:

- akútna infekcia: HBsAg pozitívne, HBeAg pozitívne, HBc IgM pozitívne
- chronická perzistentná infekcia: HBsAg pozitívne, HBeAg pozitívne - dlhšie ako 6 mesiacov
- nosičstvo: HBsAg pozitívne, antiHBe pozitívne

Pri náleze antiHBs protilátok, je možné verifikovať ich pôvod (postvaccinačné – len antiHBs, postinfekčné -súčasná existencia antiHBc total, prípadne antiHBe). Terapia je symptomatická, prevencia je možná inaktivovanou vakcínou (profylaxia po poranení – protilátky proti HBs + aktívne očkovanie. Robí sa očkovanie novorodencov HBsAg pozitívnych matiek).

Vírus hepatitídy C (VHC) je flavivírusom podobný vírus obsahujúci pozitívny RNA genóm s viacerými antigénmi, podliehajúci antigénnym zmenám. Vírus sa šíri krvou a krvnými derivátmi parenterálne. Má tendenciu vyvolávať perzistentnú infekciu s progresiou do cirhózy a karcinómu. Protilátky nie sú protektívne a môžu byť prítomné v priebehu akútnej infekcie, revakcinácia je možná. Všeobecne dostupný dôkaz protilátok ELISA je znakom infekcie. Nález je potrebné potvrdiť Western blotom. Dôkaz akútnej infekcie je možný súčasťou detekciou antigénu a protilátky v jednom teste. Na potvrdenie aktívnej infekcie je potrebný dôkaz RNA použitím PCR. Vzhľadom na chronicitu a genetickú variabilitu vírusu záťaž a protektívna hladina protilátok môže kolísť. Vzhľadom na výraznú tendenciu ku chronicite je možné požiť interferón na liečbu. Špecifická prevencia nie je k dispozícii.

Vírus hepatitídy D (VHD) je tzv. delta antigén – neúplný vírus – schopný replikácie v bunke súčasne infikovanej VHB. Infekcia delta antigénom je v súvislosti s infekciou VHB možná ako:

- koinfekcia – súčasná infekcia VHB a delta antigénom
- superinfekcia – infekcia delta antigénom buniek s aktívnou infekciou (akútnou alebo chronickou) VHB.

Sérologický dôkaz delta antigénu a súčasný dôkaz aktívnej infekcie VHB (HbsAg, HBeAg). Terapia je podobná ako pri infekcii VHB. Prevenciou infekcie VHB je súčasne prevenciou koinfekcie delta antigénom. Prevencia superinfekcie nie je možná.

Vírus hepatitídy E (VHE) má charakteristiky pripomínajúce calicivírusy. Šíri sa orofekálnou cestou, najmä vodou. Symptómy a vývoj infekcie a symptómy sú podobné ako pri HAV, vírus hepatitídy E vyvoláva len akútne ochorenia.

Vírus hepatitídy G (VHG) je tiež známy ako GB vírus-C (GBV-C) je flavivírus prenášaný krvou, vyvoláva chronické hepatitídy. Identifikácia sa vykonáva na základe identifikácie genómu pomocou RT-PCR.

Tabuľka 51. Vírusy hepatitíd – prehľad.

	Hepatitída A	Hepatitída B	Hepatitída C	Hepatitída D	Hepatitída E
Názov	infekčná	sérová	nonAnonB postransfúzna	Delta Ag	Enterická nonAnonB
Vírus	Picorna,	Hepadna, obalený	Flavi, RNA	Viroid, RNA cirkulárna	Calcivirus- like, RNA
Prenos	fekálneoráln y	Parenterálne, sexuálne	Parenterálne, sexuálne	Parenterálne, sexuálne	fekálneorálny
Nástup	náhly	plíživý	plíživý	náhly	náhly
Inkubačný čas	15-50 dní	45-160	14-180	15-64	15-50
Úmrtnosť	0.5%	1-2%	0.5-1%	vysoká	1-2% tehotné 20%
Chronicita	nie	áno	áno	áno	nie
Komorbidity	nie	Cirhóza, Ca	Ci, Ca	Ci, fulminant	nie
Lab. dg	antiHAV	HBsAg	antiHCV	antiHDV	Anti HEV
Závažnosť	mierne	Mierne až ťažké	Subklinické	Koinfekcia superinf.HB	Mierne, tehotné ťažké

Kazuistika

Pacient A: 55-ročný muž bol hospitalizovaný, mal nasledujúce príznaky: únava, nausea, abdominálny diskomfort, mierne zvýšenú horúčku, tmavý moč. Brucho bolo mäkké, priehmatné. Pred mesiacom sa vrátil z dovolenky v Thajsku.

Pacient B: 28-ročná žena, narkomanka, v 3. mesiaci tehotenstva bola prijatá do nemocnice s vracaním, mala tmavý moč a ikterus.

Pacient C: 68-ročný muž, ktorý pred pol rokom podstúpil chirurgický zákrok-koronárny bypass bol prijatý do nemocnice, bol ikterický, vracal.

Aké laboratórne testy pomôžu odlíšiť jednotlivé typy hepatitíd?
Ako sa jednotliví pacienti pravdepodobne nakazili?
Ktorý z pacientov má pravdepodobne chronickú infekciu?

Úlohy na praktické cvičenia

A. Priama diagnostika vírusov – odber materiálu

Stolica (rotavírusy, adenovírusy) - vzorky sa odoberajú do sterilných odberových nádob (1 - 2 ml alebo 1 - 2 g stolice). Test by sa mal vykonať čo najskôr po odbere vzorky stolice, ak to však nie je možné, možno vzorky uschovávať 1 - 2 dni pred testovaním v chladničke pri 2 - 4 °C. V prípade dlhšieho skladovania (maximálne 1 rok) by sa mali vzorky uskladňovať zmrazené pri -20 °C. Na stanovenie antigénov rotavírusov a adenovírusov v stolici je možné použiť kvalitatívny imunochromatografický test.

Dôkaz antigénov respiračných vírusov (RSV, vírus chrípky A a B, adenovírus) - nazofaryngeálne sekréty, výplachy, resp. aspiráty - odberová tekutina nesmie obsahovať formaldehyd a jeho deriváty. Tampón z nosa a spútum nie sú výrobcom odporúčané ako vhodný materiál na vyšetrenie a negarantuje sa pri nich rovnaká presnosť výsledku ako pri výplachoch. Výrobca neodporúča vyšetrovanie spúta. Materiál by mal byť ihneď odoslaný do laboratória, môže sa skladovať 24 hod. pri 2 - 8 °C, alebo dlhšie pri -20 °C.

Dôkaz vírusu metódou PCR (kvalitatívne, kvantitatívne) - vhodný materiál na stanovenie metódou PCR je sérum alebo plazma. Vzorky antikoagulované heparínom alebo jeho derivátmi sú na tento test nevhodné. Plná krv sa uschováva pri teplote 2 - 25 °C maximálne 6 hod. Sérum alebo plazma sa musí z krvi separovať do 6 hod. od odberu, a to centrifugovaním pri 1500 x g počas 20 minút pri teplote 18 - 25 °C (nie centrifugovanie s chladením). Sérum alebo plazma sa prepravujú zmrazené. Nesmú rozmraziť. Najvhodnejšie sa prepravuje v prenosnej mrazničke alebo na suchom ľade. Vzorky séra alebo plazmy sa skladujú zmrazené. Krátkodobo pri -20 °C, dlhodobo pri -70 °C.

B. Nepriama diagnostika vírusov – odber materiálu

Na nepriamu diagnostiku sa odoberá venózna zrazená krv, sérum. Krv na vyšetrenie protilátok sa odoberá asepticky v množstve 5 - 7 ml z vena cubiti do špeciálnej odberovej súpravy určenej na odber a transport krvi. Odoberaná krv sa môže do 2 hodín po odbere uschovávať pri teplote 18 - 25 °C (izbová teplota), neskôr sa vzorka musí uložiť a transportovať pri teplote 2 - 8 °C (chladničková teplota). Pokiaľ transport vzorky do laboratória trvá viac ako 24 hodín, musí sa zaslať do laboratória asepticky odoberaté sérum. Sérum uskladniť do transportu pri teplote 2 - 8 °C maximálne 2 dni, potom zmraziť pri teplote -25 ± 6 °C (v takom prípade treba na žiadanku uviesť, že materiál bol zmrazený). Na odber krvi je potrebné dostaviť sa nalačno.

C. Izolácia vírusov

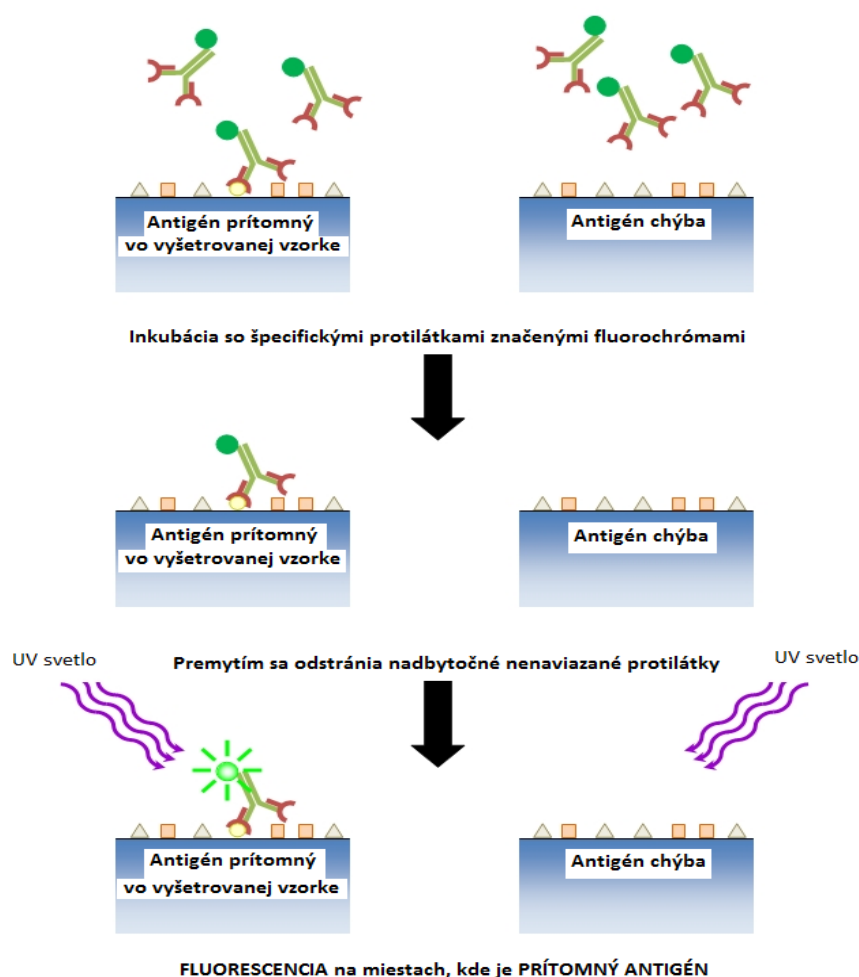
Zvieracie a niektoré ľudské bunky sa môžu za určitých podmienok množiť v umelom prostredí a vytvárať tkaninovú kultúru. Primárne bunkové kultúry môžu byť získavané od rôznych druhov živočíchov napr. králik, myš, potkan, ale aj od človeka. Tkanivové kultúry sa môžu získavať z kože, sietnice oka, miechy, vnútorných orgánov juvenilných jedincov, dospelých jedincov alebo plodov. V súčasnosti sa využívajú jednovrstvé tkanivé kultúry, ktoré slúžia na izoláciu vírusov a na určovanie ich vlastností. Biologickú aktivitu vírusov môžeme posudzovať podľa zmien, ku ktorým dochádza v bunkách v tkaninovej kultúre (zmena tvaru, rastu, alebo množenie ale aj podľa rôzneho

poškodenia bunky). V tomto prípade hovoríme o tzv. cytopatickom efekte. Niektoré metódy využívajú špecifickú protilátku proti vírusu, ktorá zabráni poškodeniu buniek (dôjde k zábrane cytopatického efektu). Vírusy môžeme dokázať pomocou elektrónovej mikroskopie, imunofluorescenciou, testom ELISA alebo komplement-fixačnou reakciou. Niektoré vírusy možno izolovať na kuracích embryách. Infekčný materiál sa očkuje do žltkového vaku, alebo do alantoidného či amniového vaku.

D. Vybrané serologické metódy používané na doagnostiku vírusov

Imunofluorescencia

Imunofluorescenčné techniky sa využívajú na dôkaz antigénov alebo protilátok pričom vizualizácia vzniknutého imunokomplexu sa robí **pomocou protilátok značených fluorescenčnými farbivami (fluorochrómami)**. Medzi najznámejšie fluorochrómy patrí FITC – fluoresceín isotiokyanát. Imunofluorescencia je známa v dvoch modifikáciách: priama a nepriama imunofluorescencia.



Obr. 204. Priama fluorescencia – princíp.

<https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=348>

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

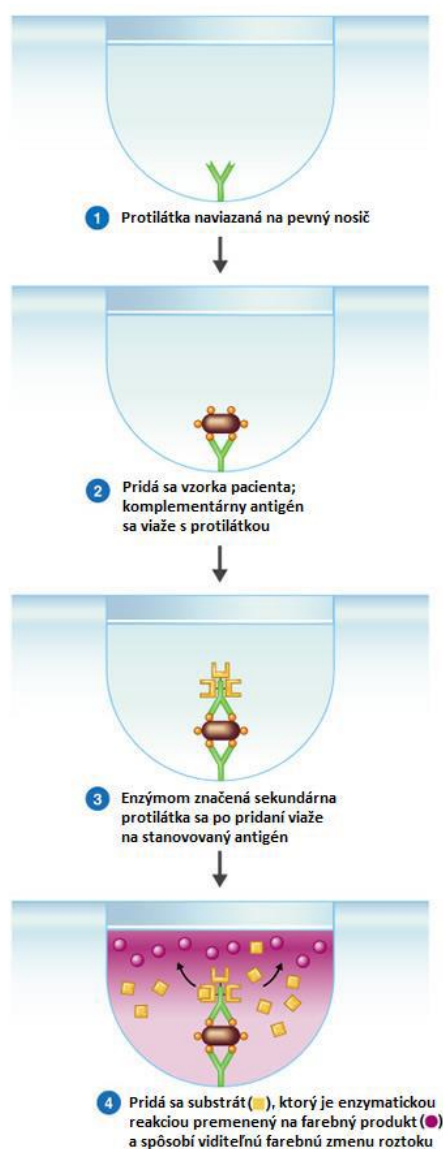
ELISA je enzýmová imunoanalýza na pevnej fáze. Znamená to, že jedna z reagujúcich látok (buď známy antigén, alebo známa protilátka) je naviazaná na pevnú fázu (nosič). Ako nosič sa najčastejšie používajú jamky mikrotitračnej doštičky. Samotná reakcia

prebieha v niekoľkých krokoch, medzi ktorými sa premývaním odstraňujú z reakčnej zmesi nenaviazané látky.

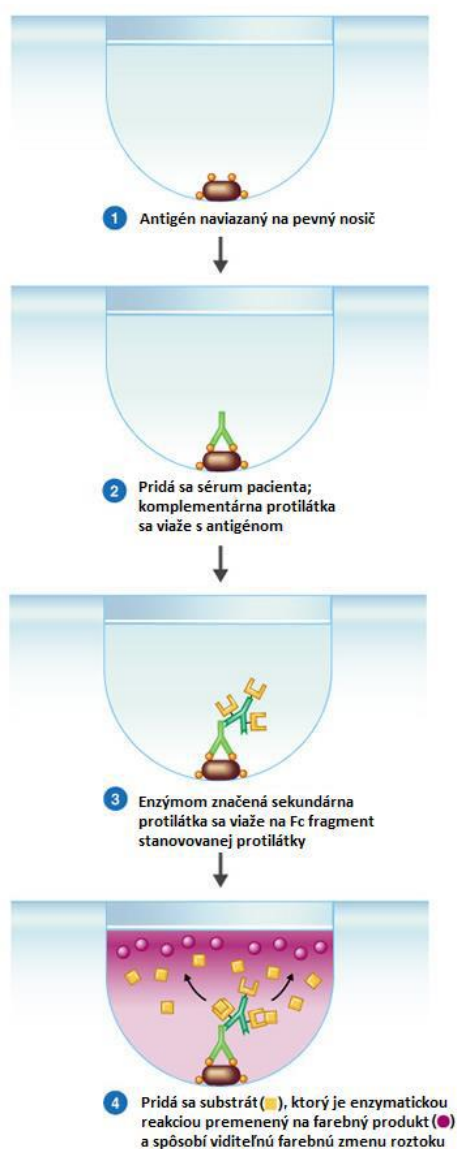
ELISA na dôkaz protilátok

Pri dôkaze protilátok je na stenu jamiek mikrotitračnej doštičky naviazaný známy antigén. Do jamiek mikrotitračnej doštičky sa aplikujú vzorky, v ktorých sa stanovuje prítomnosť špecifických protilátok. Na antigén sa po pridaní vyšetrovanej vzorky naviažu stanovené špecifické protilátky (ak sa vo vzorke nachádzali). Premytím sa odstráni nadbytočné nenaviazané protilátky. V ďalšom kroku sa pridá enzýmom značená sekundárna protilátka proti ľudskému imunoglobulínu (konjugát), ktorá je namierená proti Fc fragmentu stanovovanej protilátky. Po ďalšom premytí sa pridá bezfarebný substrát, ktorý je v pozitívnom prípade štiepený enzýmom naviazaným na sekundárnu protilátku a vzniká farebný produkt.

Intenzita výsledného zafarbenia sa meria spektrofotometricky a je úmerná koncentrácii stanovovanej protilátky.



a) Stanovenie antigénu metódou ELISA



b) Stanovenie protilátky metódou ELISA

Obr. 205. ELISA – princíp testu.

<https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=348>

ELISA na dôkaz antigénov

Pri dôkaze antigénov je na stenu jamiek mikrotitračnej doštičky naviazaná známa protilátka. Do jamiek sa pridávajú vzorky, v ktorých sa stanovuje prítomnosť antigénu. Potrebné je však, aby antigén mal aspoň dva odlišné epitopy. Na protilátku fixovanú k stene jamky mikrotitračnej doštičky sa naviaže stanovovaný antigén, na ktorý sa v ďalšom kroku naviaže enzýmom značená protilátka proti vyšetrovanému antigénu. Pridá sa bezfarebný substrát, ktorý sa v pozitívnom prípade enzymaticky katalyzovanou reakciou zmení na farebný produkt.

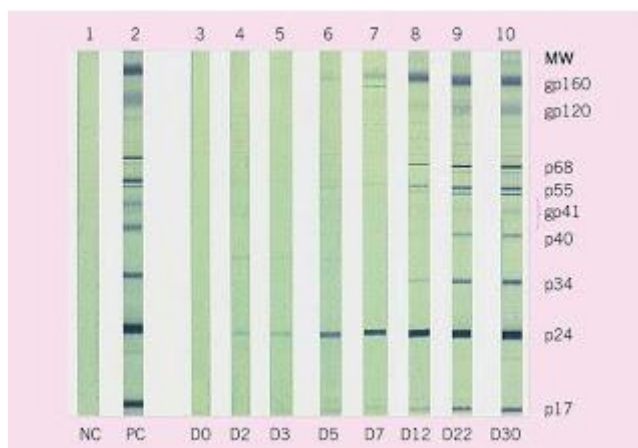
Intenzita výsledného zafarbenia roztoku sa meria spektrofotometricky a je úmerná koncentrácii dokazovaného antigénu vo vzorke.

Western blot

Princíp Western blotu spočíva v tom, že skúmaná zmes proteínových antigénov je rozdelená elektroforézou v géli a následne prenesená na pevný nosič (napr. nitrocelulózovú membránu). V ďalšej fáze dochádza k vlastnej imunoanalýze.

Imunoblot sa ponorí do vzorky pacientovho séra, v ktorom sa majú dokázať protilátky. Po inkubácii a premytí sa miesta s naviazanými protilátkami vizualizujú pomocou značenej sekundárnej protilátky proti ľudskému imunoglobulínu (značená je napr. enzýmom).

V pozitívnom prípade sa na imunoblote objaví tmavý prúžok na mieste, ktoré zodpovedá určitému antigénu, proti ktorému vyšetrovaná vzorka obsahovala príslušnú protilátku.



Obr. 206. Western blot na dôkaz HIV-1

<http://meromicrobiology.blogspot.sk/2011/07/western-blotting-for-hiv-test.html>

1. Popíšte princíp elektrónovej mikroskopie.
2. Popíšte princíp ELISA testu.
3. Popíšte princíp Wester blott testu.
4. Popíšte princíp imunofluorescencie.

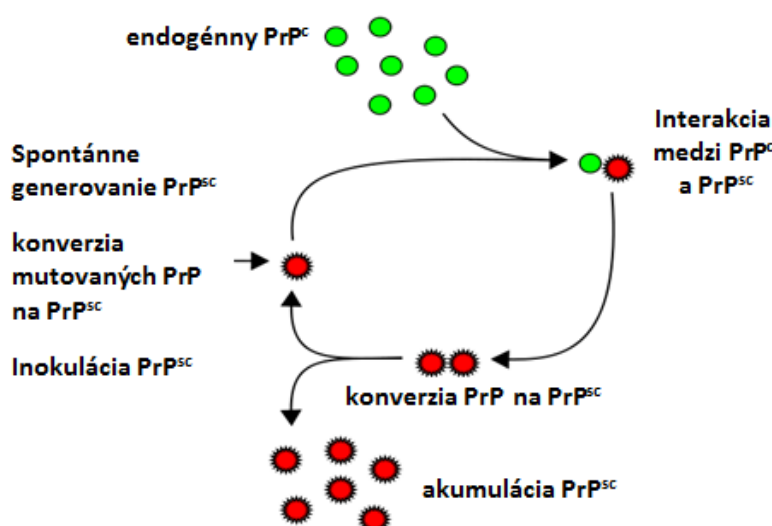
2.4 Prióny – nekonvenčné vírusy

Charakteristika

Prióny sú svojím chemickým zložením i spôsobom rozmnožovania zásadne odlišné od všetkých živých organizmov. Sú to infekčné glykoproteíny, neobsahujú nukleové kyseliny a vyskytujú sa normálne v neurónoch zdravých jedincov - človeka a niektorých ďalších cicavcov. Ich funkcia zatiaľ nie je objasnená. Za istých okolností sa môže tento glykoproteín zmeniť na patologický, ktorý je rezistentný voči pôsobeniu proteolytických enzýmov. Preto sa nemôže v neurónoch fyziologicky odbúravať, čo vedie k ich degenerácii. Pôvodcovia prionóz prechádzajú bakteriologickými filtrami, podobne ako vírusy. Fyzikálnymi vlastnosťami sa odlišujú od ostatných biologických agensov. Sú vysoko termorezistentné – nie sú deštruované varom a odolávajú suchému teplu aj žiareniu. Na rozdiel od vírusov a viroidov nie sú citlivé na pôsobenie nukleáz.

Patogénny potenciál a imunita

Pre všetky prionózy je typická dlhá inkubačná doba, pomalý priebeh a postihnutie centrálného nervového systému. Aj keď sa na niektorých prionózach zásadne podieľajú genetické faktory, je dokázaná aj ich infekčnosť. Gén pre priónový proteín **PrP** má človek na krátkom ramene chromozómu 20 vo všetkých jadrových bunkách. Konštitutívne sa však exprimuje len v neurónoch. Tento proteín, označovaný ako **PrP^C**, je citlivý na pôsobenie proteáz a podobne ako iné proteíny v tele po uplynutí svojho funkčného času podlieha enzýmovému rozkladu proteázami, avšak jeho jadro odoláva týmto proteolytickým enzýmom a je považované za špecifický chorobný proteín **PrP^{Sc}**. Neodbúrateľnosť tejto formy proteínu vedie k jeho hromadeniu v neurónoch, kde sa hromadí, zaplňuje ich vnútro a vyraduje ich z činnosti, čo sa považuje za príčinu choroby. V mozgu dochádza k vakuolizácii - nadobúda špongiovitý výzor. Podobný patogenetický mechanizmus má Alzheimerova choroba, ktorú však zapríčínajú **tau** proteíny.



Obr. 207. Model propagácie priónov.

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Prion_propagation.svg

Ochorenia

Choroby sa súhrnne označujú ako *prionózy* alebo *prenosné spongiformné encefalopatie*. K ich symptómom patrí demencia, ataxia, myoklonus, kóma a smrť, spravidla po hypostatickej pneumónii. Charakteristický je neuropatologický obraz – smrť neurónov, špongiózne zmeny v tkanive mozgu, glióza a astrocytóza, avšak bez zápalu. Prionózy majú dlhú latenciu a vyvíjajú sa pomaly, nepoznáme ani účinnú terapiu, ani špecifickú prevenciu. Inkubačná doba je od 2 mesiacov do 30 rokov. Z prionóz zvierat treba uviesť najmä klusavku (angl. *scrapie*) oviec a kôz, a v ostatnom čase závažne sa šíriacu bovinnú špongiiformnú encefalopatiu (BSE), postihujúcu hovädzí dobytok. K prionózam človeka sa zatiaľ zaraďuje kuru (vzniká následkom rituálneho kanibalizmu), Creutzfeldova-Jakobova choroba (CJD), Gerstmannov-Sträusslerov-Scheinkero- v fenomén (GSS) a fatálna familiárna insomnia (FFI). Zo zvieracích prionóz je známa scrapie (klusavka) oviec a kôz. Epidémia BSE, ktorá vznikla kŕmením dobytka mäsovokostnou múčkou pripravenou z oviec uhynutých na klusavku je hrozbou aj pre človeka, lebo je dokázaný medzidruhový prenos na primáty a o možnom prekonaní medzidruhovej bariéry svedčí aj výskyt nového variantu CJD v krajinách s výskytom BSE.

Tabuľka 52. Nekonvenčné vírusy – epidemiológia.

NEKONVENČNÉ VÍRUSY	
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none">- odolávajú štandardným postupom pre dezinfekciu vírusov- ochorenia majú veľmi dlhý inkubačný čas (30 rokov)
Prenos	<ul style="list-style-type: none">- infikovaným tkanivom- ochorenia môžu byť vrodené- poranenia kože- transplantácia infikovaných tkanív a orgánov- kontaminované chirurgické nástroje- požitie infikovaného jedla
Riziková skupina	<ul style="list-style-type: none">- rituálni kanibali- chirurgovia- pacienti, ktorí podstúpili chirurgický zákrok na mozgu- pacienti po transplantácii
Geografický výskyt/obdobie	<ul style="list-style-type: none">- výskyt sporadický (GSS a DJD)- bez sezónnej prevalencie
Možnosti kontroly/prevencie	<ul style="list-style-type: none">- liečba nie je dostupná- zastavenie rituálneho kanibalizmu (kuru)

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika je obvykle klinická, histopatologická. Imunologicky je možné dokázať agens z nezrazenej krvi s EDTA v Národnom referenčnom centre.

Špecifická terapia neexistuje, ochorenie je progredujúce, prevencia vychádza z vlastností. Prenos je parenterálny infikovaným tkanivom kontaminovanými vektormi – transplantáty, rohovky, nástroje po mozgových operáciách, mozgové sondy, rituálny kanibalizmus.

Kazuistika

70-ročný muž sa sťažoval na bolesti hlavy, bol otupený a apatický, pravá ruka sa mu triasla. O jeden mesiac neskôr začal strácať pamäť, mal obdobia zmätenosti. Pacientove ťažkosti sa neustále zhoršovali, na EEG vyšetrení bola zistená abnormálna aktivita. O tri mesiace pacient upadol do komatózneho stavu, mal občasné spontánne klonické záškľby rúk a nôh, reagoval myoklonickými záškľbmi na hlasné podnety. Štyri mesiace po nástupe príznakov pacient zomrel na pneumóniu. Pitva ukázala prítomnosť vláknitých štruktúr a intracelulárnej vakuolizácie v bunkách kortexu. Známký zápalu a opuchu neboli prítomné.

Ktoré vírusové ochorenia môžu mať podobnú symptomatológiu?
Ako sa prenášajú nekonvenčné vírusy?
Ako sa diagnostikujú prióny?

OTÁZKY

1. Charakterizujte prióny
2. Aký inkubačný čas majú infekcie vyvolané priónmi?
3. Aká je patogenéza vzniku infekcií vyvolaných priónmi.
4. Aké ochorenia vyvolávajú prióny?

3 HUBY

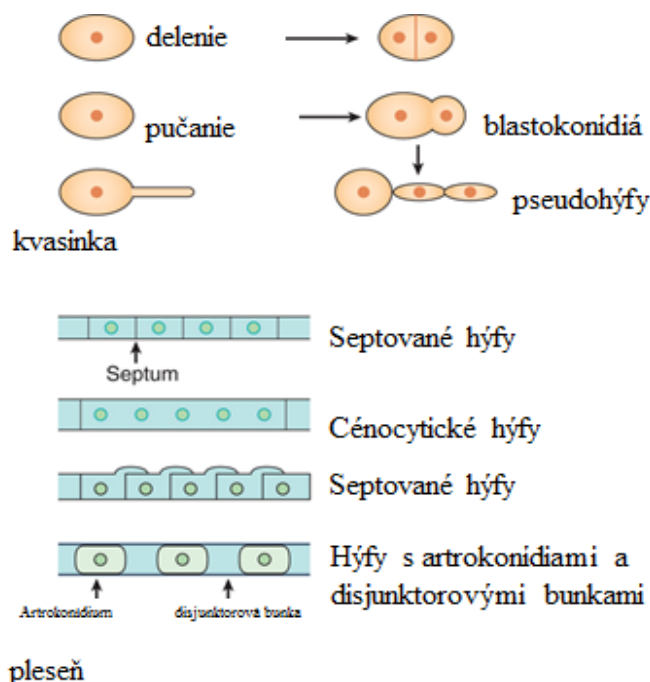
V tejto kapitole sú stručne opísané základné charakteristiky, morfológia, patogénny potenciál a zjednodušená taxonómia mikroskopických húb, ktoré vyvolávajú infekcie u ľudí.

Charakteristika

Huby predstavujú rôznorodú skupinu eukaryotických mikroorganizmov. Ich bunková membrána obsahuje ergosterol, čo poskytuje možnosť pre selektívny zásah antimykotikami. Väčšinou sú podmienene patogénne a len malá skupina je primárne patogénnych. Huby obvykle pri raste produkujú enzýmy a rozkladajú tkanivá. Huby rastú v dvoch fázach – vegetatívnej a reprodukčnej. Vo vegetatívnej fáze (rast, zväčšovanie) sú bunky haploidné. Obvykle rastú ako plesne s hýfami (mycélium) alebo ako jednobunkové kvasinky.

Kvasinky sú jednobunkové, reproduktujú sa asexuálne tvorbou blastokonídií (pučanie), alebo delením. Dcérske bunky sa môžu predlžovať a vytvárať pseudohýfy.

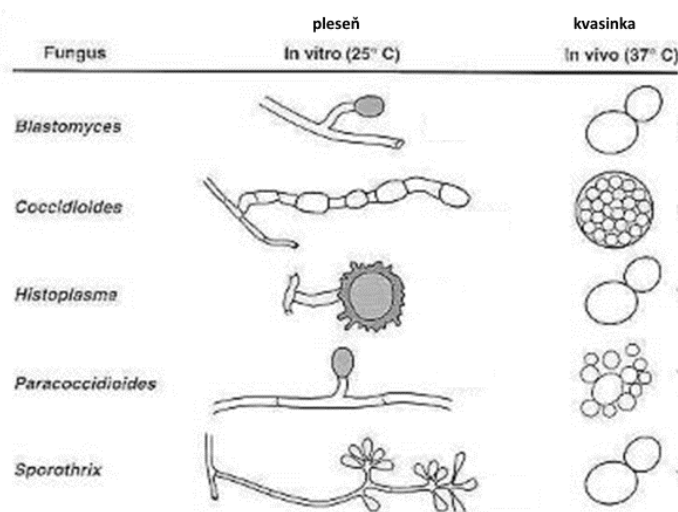
Plesne sú vláknité, mycéliové huby, zložené z vetvených vlákien (hýf), ktoré sa predlžujú na koncoch a môžu byť mnohoadrové, cénocytické, alebo septované. Sústava hýf sa nazýva mycélium. Mycélium vnorené do kultivačného média sa nazýva **vegetatívne**, mycélium vyčnievajúce nad povrch sa označuje ako **vzdušné**, uvoľňujúce špecializované štruktúry **konídiá** (asexuálne rozmnožovanie, diseminácia, identifikácia). Niektoré huby môžu meniť morfológiu podľa teploty - tzv. teplotný dimorfizmus.



Obr. 208. Morfológia húb.

Dimorfné huby sa pri teplote 37°C vyskytujú ako kvasinky, pri teplote 22°C ako plesne. V reprodukčnej fáze môžu bunky podstúpiť asexuálne alebo sexuálne delenie. Asexuálne delenie zahŕňa tvorbu spór, sexuálne vyžaduje špecifické bunkové štruktúry

nevyhnutné na spojenie za účelom rozmnožovania. Tieto štruktúry sa využívajú na taxonomické určenie a klasifikáciu húb. Existuje veľké množstvo rôznych rodov a druhov húb, z ktorých niektoré spôsobujú ochorenia ľudí (patogénne huby), niektoré ochorenia imunokompromitovaných (oportúnne).



Obr. 209. Teplotný dimorfizmus húb

<http://www.njmoldinspection.com/mycoses/Spectrum%20of%20Mycoses.htm>

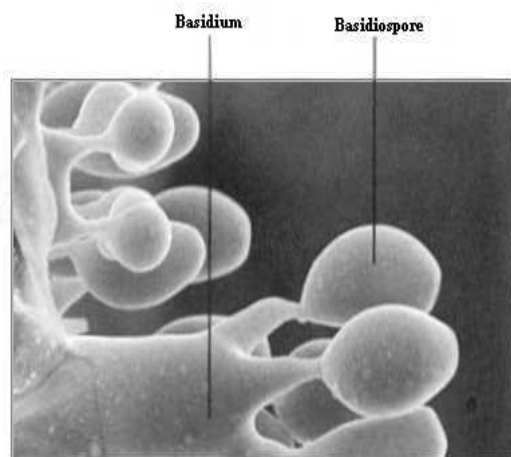
Rozdelenie húb

Mucormycetes (dávnejšie označované ako Zygomycetes)

Tvoria hrubé, riedko septované alebo cénocytické hýfy, produkujú sexuálne zygospóry, asexuálne spóry (sporangiospóry) sú umiestnené v sporangióch, ktoré sa nachádzajú na sporangiofóroch. Patria sem rody *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*. Vyvolávajú tropické subkutánne mukormykózy.

Basidiomycetes

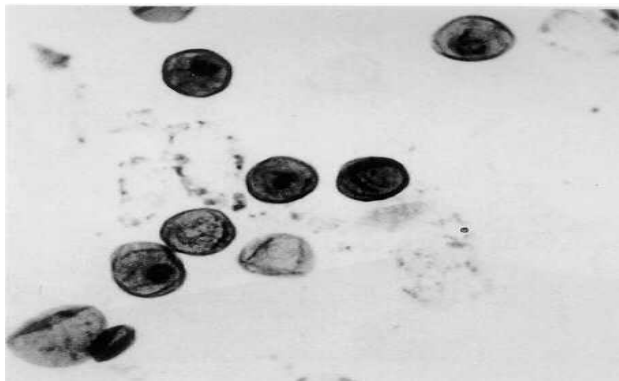
Vyskytujú sa ako vláknité formy, niektoré ako kvasinky. Pri sexuálnej reprodukcii sa vytvárajú bazidiospóry, ktoré sú prítomné na bazídiách. Do tejto skupiny patria rody *Cryptococcus*, *Malassezia* a *Trichosporon*.



Obr. 210. Basidiomycetes.

Pneumocystidiomycetes

Je to nová skupina, ktorá zahŕňa organizmy *Pneumocystis carinii*, v minulosti považované za protozoa. Tieto huby existujú vo vegetatívnej trofickej forme, rozmnožujú sa asexuálne binárnym delením.



Obr. 211. *Pneumocystis carinii*, farbenie podľa Gomoriho.

<http://www.pathobio.sdu.edu.cn/sdjsc/engparabook/ch085.htm>

Sacharomycetes

Sú charakteristické kvasinky, vo vegetatívnej fáze sa rozmnožujú pučaním alebo delením. Patrí sem rod *Candida*.



Obr. 212. Sacharomycetes.

<http://wegomountain.files.wordpress.com/2009/12/saccharomycetes-e985b5e6af8de88f8c.jpg>

Euascomycetes

Sexuálna reprodukcia vedie k vytváraniu vačkov (vačok – ascus), ktorý obsahuje askospóry, v laboratórnych podmienkach sa často vyskytujú ako septované plesne. Do tejto skupiny patria dermatofyty (*Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*), ďalej *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

Patogenéza a imunita

Mykotické infekcie sú často následkom predisponujúcich faktorov, vznik mykóz je ovplyvnený vekom, stresom, patologickými procesmi, ako sú rakovina, cukrovka, AIDS. Len dermatofyty a kandidózy sú prenosné interhumánne, ostatné sú prenesené z prostredia (rastliny, pôda, vzduch). Nešpecifická imunita je podstatná pre ochranu pred

vznikom a pri zvládnutí mykotických infekcií. Špecifická imunita je dôležitá pri primárne patogénnych mykózach. Úloha humorálnej imunity je do určitej miery kontroverzná, pretože protilátky nie sú protektívne a vysoké koncentrácie môžu potlačovať bunkovú imunitu. Niektoré protilátky môžu byť protektívne (antitoxíny, opsoníny). Bunková imunita je dôležitejšia. Je sprostredkovaná T-bunkami. Imunita vyvoláva tri typy tkanivových reakcií. Môže byť prítomný chronický zápal (jazvenie, lymfocytóza), granulomatózny zápal (nahromadenie modifikovaných epiteliálnych buniek, lymfocytov) alebo vznikajú akútne hnisavé zápaly (vaskulárna kongescia, exsudácia, akumulácia polymorfonukleárných leukocytov). Typy postihnutia hubami delíme na:

- mykotoxikózy – intoxikácia mykotoxínmi, ktoré sú vytvorené metabolizmom húb
- chronické intoxikácie – dlhodobé pôsobenie toxínu (napr. aflatoxín), majú vzťah ku karcinogéze
- alergie – dlhodobé malé dávky vyvolajú hypersenzitívnu reakciu
- zápalová reakcia – imunopatologické následky obrannej reakcie hostiteľského organizmu

Mykózy sú choroby človeka alebo zvierat spôsobené (mikroskopickými) hubami. Z klinického hľadiska sú mykózy klasifikované podľa tkanív, ktoré postihujú:

- povrchové (superficiálne) – postihnutá je povrchová vrstva kože a vlasov
- kožné – postihujú hlbšie vrstvy epidermis a vlasov
- podkožné, podpovrchové – dermis, podkožné tkanivá, svaly
- systémové (endemické) - (obvykle v pľúcach)
- oportúnne

Tabuľka 53. Rozdelenie mykóz.

Povrchové mykózy	Kožné a podkožné mykózy	Endemické mykózy	Oportunistické mykózy
Čierna piedra <i>Piedraia hortae</i> Tinea nigra <i>Hortae werneckii</i> Pityriasis versicolor <i>Malassezia furfur</i> Biela piedra <i>Trichosporon</i> spp.	Dermatofytózy <i>Microsporum</i> spp. <i>Trichophyton</i> spp. <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Tinea unguium</i> <i>Trichophyton</i> spp. <i>E. floccosum</i> Onychomykózy <i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>Geotrichum</i> spp. Keratinózy <i>Fusarium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp. Chromoblastomykózy <i>Fonsecaea</i> spp. <i>Phialophora</i> spp.	Blastomykóza <i>Blastomyces dermatitidis</i> Histoplazmóza <i>Histoplasma capsulatum</i> Coccidioidomykóza <i>Coccidioides immitis/posadasii</i> Paracoccidioidomykóza <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Aspergilóza <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. terreus</i> Kandidóza <i>Candida albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. tropicalis</i> Cryptococcosis <i>Cryptococcus neoformans</i> Trichosporonóza <i>Trichosporon</i> spp. Mucormykóza <i>Rhizopus</i> spp. <i>Mucor</i> spp. Pneumocystóza <i>Pneumocystis jirovecii</i>

3.1 Laboratórna diagnostika mykóz

Priama mikroskopická analýza biologických vzoriek (primárne sterilných materiálov: krv, likvor, operačný materiál, biotická vzorka, punktát, dialyzát) je základným a najrýchlejším krokom pre rýchlu diagnostiku povrchových aj systémových mykóz. Odoberatý materiál sa spracuje pridaním 10% KOH, aby sa rozpustil keratín. Kultivácia

na Sabouraudovom agare je obvykle úspešná, identifikácia však môže byť náročná. Pri raste vo forme kvasiniek je možná mikroskopia, detekcia germinálnych tubulov (germ test – pučanie kvasiniek pri inkubácii v čerstvom sére), je možné použiť aj biochemickú identifikáciu (auxogram, zymogram). Plesňové formy je možné identifikovať mikroskopicky počas kultivácie v bločkoch ryžového agaru. Niektoré plesne je možné identifikovať na základe fluorescencie pri 365 nm UV svetle. Podľa morfológie prítomných elementov, štruktúr húb možno orientačne určiť skupinu, prípadne rod pravdepodobného pôvodcu choroby. Veľkou výhodou je rýchlosť mikroskopickej diagnostiky, výsledky sú k dispozícii do niekoľkých hodín od doručenia vzorky do laboratória, nevýhodou je však relatívne malá senzitivita, nižšia ako pri kultivácii, čo znamená, že negatívne mikroskopické vyšetrenie biologickej vzorky môže pri pozitívnom náleze potvrdiť ale pri negatívnom náleze nevylúči možnú infekciu mikroskopickými hubami.

Kultivácia biologických vzoriek umožňuje izoláciu pôvodcu ochorenia a po jeho získaní presnú identifikáciu a určenie citlivosti na antimykotiká. Nevýhodou tejto diagnostiky je, že mikroskopické huby rastú v porovnaní s baktériami pomalšie (kvasinky 48-72 hodín, vláknité huby 72 a viac hodín). Preto ich prítomnosť dokážeme v priebehu niekoľkých dní. Pri niektorých vláknitých hubách aj až po niekoľkých týždňoch. Pri kultivačnej analýze je potrebné upozorniť i na prediktívnu hodnotu dôkazu patogénnej mikroskopickej huby. Prítomnosť kvasiniek alebo vláknitých húb v primárne sterilných materiáloch, ako sú hemokultúry, likvor a biotické vzorky, má veľmi vysokú prediktívnu hodnotu. Pozitívne nálezy kvasiniek alebo vláknitých húb z primárne nesterilných miest (bronchoalveolárna laváž, sputum, moč a pod.) majú podstatne nižšiu prediktívnu hodnotu a významovo závisia od toho, či ide o kvantitatívne signifikantný nález, čistú kultúru, opakovane potvrdený nález. Závisia aj od typu mykotického pôvodcu, charakteru analyzovaného materiálu, ako aj od stavu imunitného systému pacienta.

Nepriamy dôkaz protilátok a priamy dôkaz **antigénov** v krvnom sére:

- **manan** (kandidový antigén) a **antimanan** (kandidové protilátky proti mananu). Manan je glykoproteín steny kvasiniek, ktorý sa uvoľňuje do telesných tekutín, kde ho možno stanoviť. Súčasný dôkaz mananu a antimananu metódou EIA zlepšuje včasnosť, rýchlosť a citlivosť diagnostiky invazívnych kandidóz.
- **galaktomanan** (aspergilový antigén) a **antigalaktomanan** (aspergilové protilátka proti galaktomananu *Aspergillus fumigatus*). Galaktomanan je heteropolysacharid bunkovej steny húb, špecifický pre kmene aspergilov, ktorý sa tiež uvoľňuje do séra a telesných tekutín. Test sa prejavuje vysokou špecificitou.
- **1,3-β-D-glukan** je hlavný polysacharid bunkovej steny mikroskopických húb. Do okolia sa uvoľňuje len pri raste buniek. Označuje sa aj ako panfungálny marker, ktorý je detekovateľný pri invazívnej kandidóze, aspergilóze, ale aj pri infekciách vyvolaných inými hubami, napr. *Fusarium* spp., *Acremonium* spp., *Cryptococcus* spp. a iné.

Pri všetkých sérologických metódach je potrebné potvrdiť pozitívny nález opakovaným vyšetrením z dôvodu falošných pozitív. U niektorých systémových mykóz je možné identifikovať precipitačné protilátky imunodifúziou (histoplazmóza, coccidioidomykóza). Hypersenzitívnu reakciu oneskoreného typu je možné testovať kožným intradermálnym testom.

Molekulárne biologické metódy sú zamerané na dôkaz nukleových kyselín patogénnych húb v klinickom materiáli. Najsľubnejším prístupom je kombinácia širokospektrálnej PCR (panfungálna PCR), keď je amplifikovaný (zmnožený) produkt spoločný takmer pre všetky patogénne huby s následnou špecifikáciou produktu pomocou restriktívnej endonukleázovej analýzy, sekvenácie alebo hybridizácie.

3.2 Liečba mykotických infekcií

Antimykotiká možno rozdeliť na nešpecifické a špecifické. Nešpecifické antimykotiká sú lokálne antimikróbne účinné látky, dezinficienciá (denaturujú bielkoviny, deštruujú bunkovú stenu mikróbov, menia pH). Špecifické antimykotikum pôsobí selektívne na huby, zasahuje jednu alebo viaceré štruktúry či metabolické procesy (napr. produkciu enzýmov, esenciálne zložky bunkovej membrány, bunkovej steny, proteosyntézu...).

Rozdelenie antimykotík

Základný mechanizmus účinku všetkých derivátov z jednej skupiny antimykotík je charakteristický a zhodný, rozdiely v aktivite jednotlivých derivátov závisia od jeho chemickej štruktúry a od závažnosti zmien, ktoré spôsobia v bunkách huby:

Grizeofulvín - inhibuje tvorbu deliaceho vretienka (t.j. mitózu v štádiu metafázy), používa sa najmä pri liečbe dermatofytóz.

Polyénové antimykotiká – ireverzibilne sa viažu na steroly v bunkovej membráne húb za tvorby tzv. vodných pórov (štrbín). Cez ne unikajú z bunky K^+ , Mg^{2+} ióny a esenciálne zložky cytoplazmy, čo vedie k poškodeniu a smrti buniek citlivých húb. Polyény sa viažu na cholesterol, sú pre živočíchy toxické. Spektrum účinku je široké (kvasinky, dimorfné huby, vláknité huby - *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* a iné).

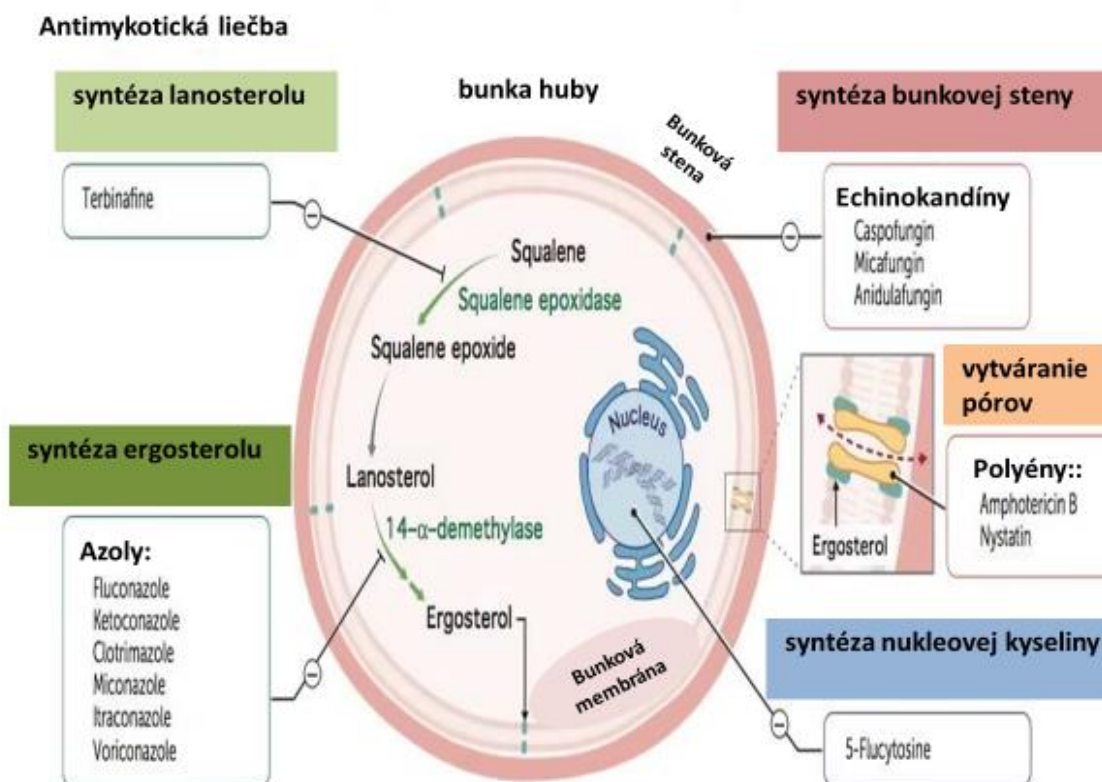
- amfotericín B – systémové, intravenózne antimykotikum, liečba invazívnych mykóz
- nystatín – pôsobí na kvasinky, niektoré vláknité non-dermatofyty, je aktívny aj proti trichomonádám.
- natamycín (pimaricín) – topické suspenzie sa používajú na liečbu orálnej kandidózy, mykóz oka (keratitídy, blefaritídy, konjunktivitídy), prínosových dutín.

Azoly (imidazoly, triazoly) – syntetické, obmedzenie syntézy ergosterolu, priama väzba na cytochróm P450. Spektrum účinku zahŕňa kvasinky, dermatofyty, endemické dimorfné huby a niektoré vláknité non-dermatofyty. Všetky imidazolové deriváty (okrem ketokonazolu) sú určené na lokálnu aplikáciu, majú dobrú účinnosť na dermatofyty a kvasinky:

- klotrimazol
- ekonazol, tiokonazol, fentikonazol - vaginálne tablety, na liečbu infekcií zmiešanej etiológie
- bifonazol - onychomykózy
- flutrimazol - dermatofytózy, kožné kandidózy, pityriasis versicolor
- oxikonazol - prvý intravenózne aplikovateľný imidazol na liečbu invazívnych mykóz, v súčasnosti len lokálne použitie
- ketokonazol - prvý perorálny imidazol

Medzi triazoly patrí terkonazol (topický), flukonazol (systémový), itrakonazol (lipofilný systémový). Vorikonazol a posakonazol sú systémové triazoly 2. generácie,

používajú sa na liečbu invazívnych mykóz, prípadne ťažkej orofaryngeálnej a ezofageálnej kandidózy.



Obr. 213. Mechanizmus účinku antimykotík.

<https://www.youtube.com/watch?v=BFQDWtWE0UY>

Alyamíny - lipofilné a keratofilné antifungálne preparáty. Nezávisle od cytochrómu P450 zasahujú do syntézy ergosterolu. Účinkujú na dermatofyty, dimorfné huby, na niektorých pôvodcov mycetómu.

- terbinafín - dermatofyty, onychomykózy, lokálne podávanie
- naftifín - lokálne podávanie

Hydroxypiridóny - syntetické, narúšajú integritu bunkovej membrány blokováním transportu makromolekulárnych prekursorov, inhibujú proteosyntézu, sú účinné na dermatofyty, kvasinky

- ciklopirox - pri kandidózach, dermatofytózach, kandidových paronychiiach a onychomykózach, lokálne
- rilopirox - lokálne, dermatofytózy

Morfolíny – inhibujú enzýmy esenciálne pre stavbu bunkovej membrány húb.

- amorolfin – dermatofyty, kvasinky, lokálne

Benzylamíny

- butenafin - derivát benzylamínu, mechanizmus účinku podobný ako pri alylamínoch, v SR nie je registrovaný

Tiokarbamáty – mechanizmus účinku ako pri alylamínoch Topické deriváty

- tolnaftát a tolciklát – lokálne, dermatofyty, niektoré kvasinky a vlákňité huby

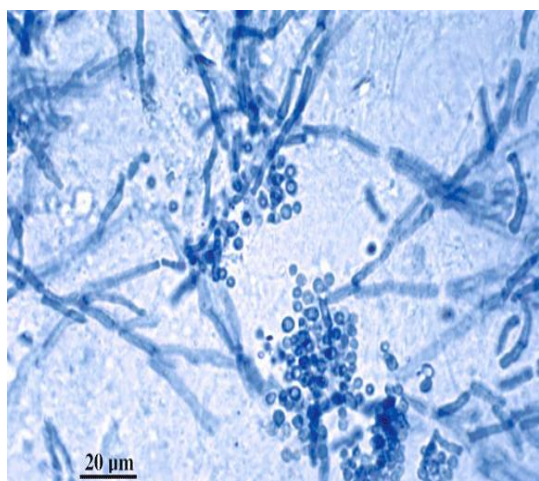
3.3 Superficiálne mykózy

Medzi superficiálne mykózy sa zaraďujú infekcie nechtov, vlasov, vrchných vrstiev kože (stratum corneum / stratum spinosum epidermy), slizníc a tiež mykózy povrchových štruktúr iných orgánov (napr. vonkajší zvukovod).

Malassezia furfur

Charakteristika

Je to dimorfná huba, ktorá sa vyskytuje bežne na koži, v mikroskopickom obraze vytvára zhluky oválnych, niekedy fľaškovitých útvarov, môžu byť prítomné aj krátke hýfy.



Obr. 214. *Malassezia furfur* „meat-balls and spaghetti“.

<http://www.gefor.4t.com/concurso/hongos/malassezia11.jpg>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Pityriasis versicolor je infekcia horných vrstiev stratum corneum epidermy, najčastejšie spôsobené *M. furfur*. Ložiská sú malé, ostro ohraničené, okrúhle, mapovité, splývajúce škvrny s jemnými šupinkami – v zime sú tmavšie (hnedasté), po slnení svetlejšie (biele) než okolitá koža, mierne svrbíace, najmä na hrudníku a okolí (možná generalizácia). Ložiská fluoreskujú (pod zdrojom UV cca 365 nm) bielo- až zlato-žlto. Diagnóza sa upresní mikroskopicky (v preparáte obraz „meat-balls and spaghetti“). Liečba je lokálna, používa sa 1% sírnik seleničitý, azoly v kréme.



Obr. 215. Pityriasis versicolor.

<https://dermnetnz.org/topics/pityriasis-versicolor/>

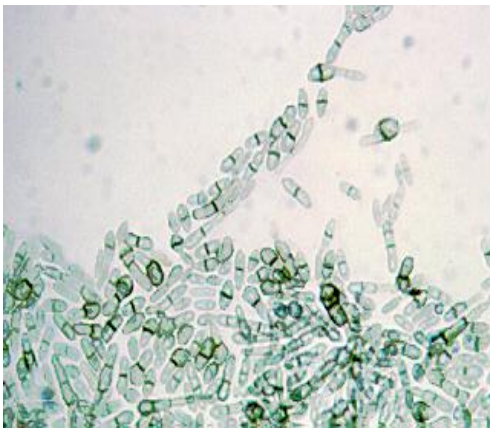
Hortaea (Exophiala) werneckii

Charakteristika

V mikroskopických preparátoch sú viditeľné vetvené, septované hýfy, artrokonídiá a predĺžené pučiace bunky.

Ochorenia, diagnostika a liečba

Tinea nigra je infekcia vrchných vrstiev stratum corneum, ložiská sú oválne, hnedočierné, ploché, ostro ohraničené makuly, často bez zápalu, hlavne na dlaniach, chodidlách, zriedka inde. Vyšetrenie uzlíkov a nález vetvených pigmentovaných hýf pevne držiacich spolu potvrdí diagnózu, v liečbe sa osvedčilo odstrániť postihnuté vlasy (oholiť). Pri tinea nigra sa používajú azolové preparáty a terbinafin.



Obr. 216. *Hortaea (Exophiala) werneckii*.

Trichosporon

Charakteristika

Mikroskopická charakteristika rodu *Trichosporon* je typická prítomnosťou hýf, artrokonídií a blastokonídií (pučiach kvasinkových buniek).

Ochorenia, diagnostika a liečba

Piedra je infekcia vlasového stvolu, superficiálne noduly sú tvorené „scementovanými“ hubovými elementami. Biela piedra – biele uzlíky na vlasoch, ochlpení. Vyskytuje sa najmä v tropických a subtropických oblastiach s nízkym hygienickým štandardom. Laboratórna diagnostika je založená na mikroskopii a kultivačnom dôkaze. Ochorenie sa lieči lokálnou aplikáciou azolových prípravkov, oholením postihnutých miest.

Piedraia hortae

Charakteristika

Piedraia hortae rastie ako pigmentovaná hnedá až červenočierna plesň, vytvára askospóry. Vyskytuje sa v tropických oblastiach Latinskej Ameriky a v strednej Afrike.

Ochorenia, diagnostika a liečba

Huba vyvoláva ochorenie Čierna piedra, pri ktorom sa okolo vlasu formujú malé tmavé uzlíky. Laboratórna diagnostika je mikroskopická a kultivačná. Liečba nevyžaduje podanie antimykotík, postihnuté miesta stačí ostrihať alebo oholiť a dodržiavať hygienu.

Kazuistika

87-ročná žena dva roky mala dva roky svrbíace, bolestivé vyrážky na koži vlasovej časti hlavy, vypadali jej vlasy. Doma chovala niekoľko mačiek, ktoré našla na ulici. Pacientka bola opakovane liečená rôznymi antibiotikami, podávali jej aj prednison, no táto terapia nepriniesla žiadne zlepšenie. Vyšetrením v nemocnici sa zistila prítomnosť početných pustúl na postihnutej časti hlavy, bol prítomný erytém, ktorý sa šírila až na krk a bola prítomná cervikálna lymfadenopatia na zadnej strane krku. Boli odobraté biopsické vzorky z lézií, bakteriologické a virologické vyšetrenia mali negatívny výsledok, kultivačným vyšetrením na prítomnosť húb sa potvrdila prítomnosť *Trichophyton tonsurans*, bola indikovaná liečba grizeofulvínom. Na kontrole po dvoch týždňoch bolo zrejmé zlepšenie stavu, kožné erupcie vymizli, vlasy jej opäť začali rásť.

O aké ochorenie sa pravdepodobne jednalo u tejto pacientky?
Ako sa pacientka mohla nakaziť?

3.4 Kožné mykózy

Charakteristika

Dermatomykózy sú infekcie rohovej vrstvy kože a kožných adnex, ktorých pôvodcami sú dermatofyty, kvasinky a iné vláknité huby. Dermatofytózy sa označujú pojmom tinea, ide o infekcie kože a kožných adnex človeka pôsobené dermatofytmi. Medzi **dermatofyty** zaradíme rody *Epidermophyton*, *Trichophyton* a *Microsporum*. Sú to mikroskopické vláknité huby s afinitou ku keratínu (rohová vrstva kože, nechty, vlasy, perie).

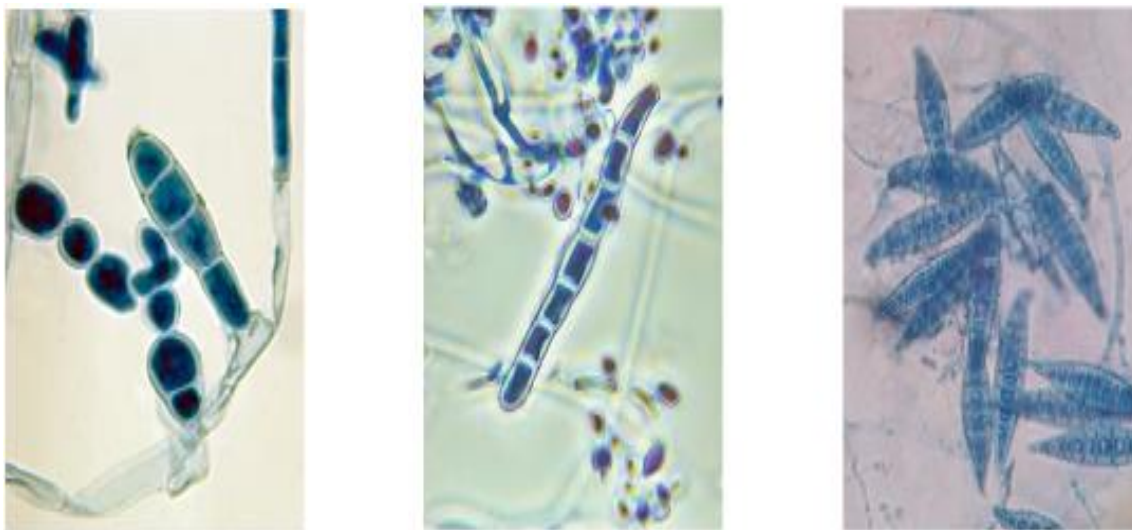


Obr. 217. Dermatofytóza.

<http://www.thebesttreatmentfor.com/ringworm/>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Dermatofytózy sú prenosné choroby. Šíria sa pri kontakte s infikovaným človekom, zvieratom, ale i nepriamo, kontaminovanými materiálmi (odev, obuv, uteráky, podlahy, sprchy, pilníky na nechty a iné). Druhy *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale* postihujú kožu tela, intertriginózne oblasti, dlane, plosky, nechty a zriedka aj ochlpenie na tele. Huby z rodu *Trichophyton* postihujú vlasy, fúzy, chlpy, kožu, zriedka i nechty. Onychomykózy sú okrem dermatofytov vyvolané aj inými hubami, napríklad rodmi *Candida* a *Aspergillus*.



Obr. 218. Dermatofyty – mikroskopia. Vľavo *Epidermophyton*, v strede *Trichophyton* a vpravo *Microsporum*.

https://pt.wikipedia.org/wiki/Epidermophyton#/media/Ficheiro:Epidermophyton_floccosum_01.jpg

Infekcie kože a slizníc vyvolané kvasinkami môžu byť signálom závažných defektov celulárnej imunity a celkových, chronických chorôb spojených s poruchami imunity, vrátane endokrinopatií (diabetes mellitus), či prechodného oslabenia po veľkých chirurgických výkonoch, úrazoch.

Na diagnostiku ochorení sa používa špeciálna Woodova lampa, mikroskopické vyšetrenie postihnutých častí, kožných šupiniek a chrást alebo kožná biopsia. Vzorky sa upravujú pridaním KOH.

Kultivácia na štandardných médiách je tiež prínosná, jednotlivé dermatofyty sa identifikujú na základe mikroskopie a charakteristickej morfológie kolónií. V liečbe sa osvedčila lokálna aplikácia azolových prípravkov, v systémovej liečbe sa používajú griseofulvín alebo terbinafin.

Materiál v suchom stave.

Kožné šupiny

- sterilným skalpelom
- po odmastení ložiska 70 % alkoholom
- do sterilnej skúmavky.

Nechty

- častice z vnútornej, s nechťovým lôžkom súvisiacej steny platničky
- častice podnechtových hyperkeratóz
- po očistení nechtovej platničky 70 % alkoholom
- odstrihneme distálny okraj nechta a odstránime detritus



Vlasy a chlpy

- epilačnou pinzetou,
- zmenené zvyšky, kýpte po odlomených vlasoch a chlpcoch
- infekcia dermatofytmi - folikulárnu časť vlasov.



Obr. 219. Pokyny k odberu vzoriek na vyšetrenie dermatofytov.

Kazuistika

6-mesačné dieťa malo na krku a na tvári prstencovitý olupujúci sa útvar, vyrážku.

Ktorá z nasledujúcich možností je pravdepodobne zdrojom infekcie?

- používanie obľúbenej prikrývky
- objímanie domácej mačky
- hra vo vonkajšom pieskovisku
- používanie mydla pre deti

Ktorý z nasledujúcich mikroorganizmov je pravdepodobne vyvolávateľom ochorenia?

- *Microsporum canis*
- *Candida albicans*
- *Trichophyton tonsurans*

Akým spôsobom je možné stanoviť diagnózu?

Kazuistika

87-ročná žena dva roky mala dva roky svrbíace, bolestivé vyrážky na koži vlasovej časti hlavy, vypadali jej vlasy. Doma chovala niekoľko mačiek, ktoré našla na ulici. Pacientka bola opakovane liečená rôznymi antibiotikami, podávali jej aj prednison, no táto terapia nepriniesla žiadne zlepšenie. Vyšetrením v nemocnici sa zistila prítomnosť početných pustúl na postihnutej časti hlavy, bol prítomný erytém, ktorý sa šírila až na krk a bola prítomná cervikálna lymfadenopatia na zadnej strane krku. Boli odobraté biotické vzorky z lézií, bakteriologické a virologické vyšetrenia mali negatívny výsledok, kultivačným vyšetrením na prítomnosť húb sa potvrdila prítomnosť *Trichophyton tonsurans*, bola indikovaná liečba grizeofulvínom. Na kontrole po dvoch týždňoch bolo zrejme zlepšenie stavu, kožné erupcie vymizli, vlasy jej opäť začali rásť.

O aké ochorenie sa pravdepodobne jednalo u tejto pacientky?
Ako sa pacientka mohla nakaziť?

3.5 Podkožné mykózy

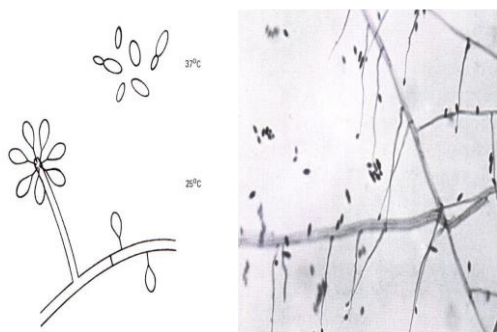
Podkožné mykózy postihujú hlbšie vrstvy kože, svaly, spojivé tkanivo. Najčastejšie vznikajú po traumatickej inokulácii, zostávajú lokalizované a vyvolávajú tvorbu abscesov, nehojajúcich sa vredov a drénujúcich sínusov. Častými pôvodcami sú rody *Exophiala* a *Cladosporium*. Najčastejšie sa tieto ochorenia prejavujú ako lymfokutánná sporotrichóza, chromoblastomykóza, eumykotický mycetóm alebo subkutánná feohyfomykóza.

Lymfokutánná sporotrichóza

Sporothrix schenckii

Charakteristika

Je to dimorfná huba, ktorá vytvára septované hýfy s oválnymi konídiami, kvasinkovité formy majú charakteristický oválny alebo predĺžený tvar („cigarovitý“ vzhľad).



Obr. 220. *Sporothrix schenckii*.

<http://www.studyblue.com/notes/note/n/subcutaneous-and-superficial-visual-ident/deck/7076611>

Ochorenia, diagnostika a liečba

S. schenckii vyvoláva **lymfokutánnu sporotichózu**, ktorá je charakterizovaná tvorbou ulcerujúcich uzlov najčastejšie na končatinách, z ktorých často vyteká hnis. Diagnostika sa opiera o charakteristický mikroskopický obraz. Liečba spočíva v perorálnom podávaní KJ alebo itraconazolu.



Obr. 221. Lymfokutánnu sporotichóza.

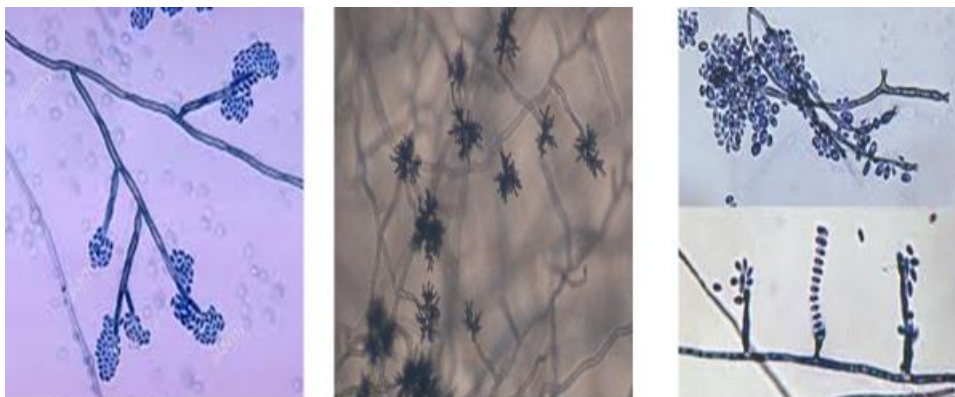
<https://www.healthline.com/health/sporotrichosis>

Chromoblastomykóza

Exophiala
Cladosporium
Cladophialophora
Phialophora

Charakteristika

Huby vyvolávajúce toto ochorenie sú pigmentované plesne, vytvárajú morfológicky rôzne formy, napríklad *Exophiala* vo forme plesní vytvára typické konídiá pripomínajúce obrúčkavce alebo červíky, môže však byť prítomná aj vo forme kvasiniek.



Obr. 222. *Exophiala* (vľavo), *Cladosporidium* (v strede), *Phialophora* (vpravo).

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3f/Cladosporium_sp_conidia.jpg

Ochorenia, diagnostika a liečba

Chromoblastomykóza je chronické progresívne ochorenie, veľmi rezistentné na liečbu. Vyskytuje sa najmä v tropických oblastiach s vlhkým a horúcim prostredím a súvisí aj s nedostatočným obutím a oblečením, kedy môže dojsť k inokulácii húb do kože a podkožia. Na postihnutých miestach sa vytvárajú veľké, svrbíace, karfiolovité lézie, usporiadané do zhlukov. Sekundárna bakteriálna infekcia môže viesť k vzniku regionálnej lymfadenitídy, k stáze lymfy a k elefantiáze. V histologických vzorkách sú viditeľné hnedé bunky pripomínajúce gaštany. Mikroorganizmy je možné kultivovať, identifikácia však môže byť problematická. Liečba je náročná, najúčinnjšími liekmi sú itraconazol a terbinafin.



Obr. 223. Chromoblastomykóza.

<https://www.medindia.net/patients/patientinfo/chromoblastomycosis-faqs.htm>

Kazuistika

52-ročný farmár z Brazílie mal tmavo pigmentované svrbíace lézie na koži. Problémy sa objavili asi pred dvoma rokmi, začali ako drobné lézie na nohe, postupne sa rozširovali a teraz sú prítomné aj na tvári. Pacient neudával žiadne zranenie, povedal, že ho pri práci poštípala neznámy hmyz a prvá lézia sa objavila na mieste poštípania. Urobili mu biopsiu z lézií, mikroskopicky sa zistila prítomnosť špecifických útvarov, svedčiacich pre chromoblastomykózu. Kultivačným vyšetrením sa v bioptických vzorkách potvrdila prítomnosť húb z rodu *Exophiala*. Pacienta liečili ketokonazolom, príznaky postupne ustúpili.

Aká je charakteristika mikroskopie húb z rodu *Exophiala*?

Aké prejavy má chromoblastomykóza?

Ako sa pacient mohol nakaziť?

Eumykotický mycetóm

Fusarium

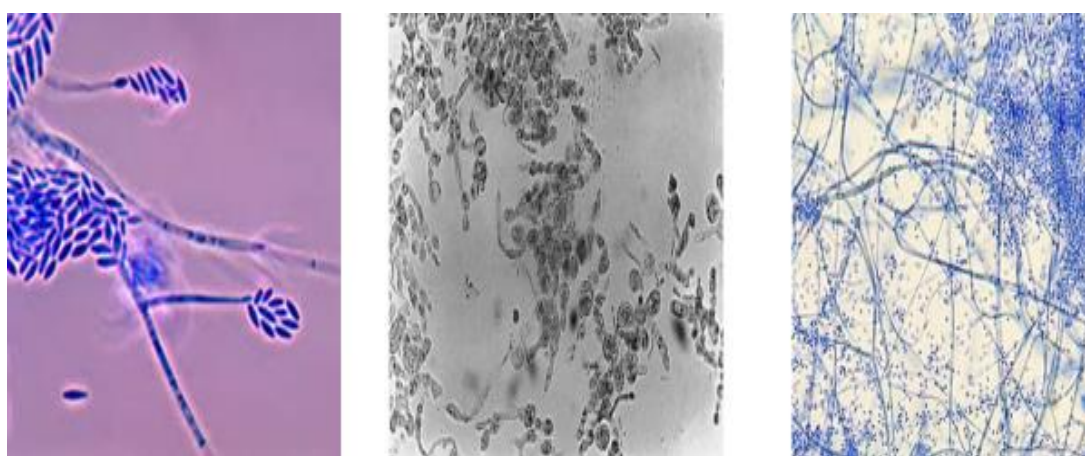
Madurella

Exophiala

Pyrenochaeta

Charakteristika

Patogény tvoria septované hýfy, obvykle čiernej farby, často sú prítomné aj veľké sférické chlamydokonídie. Prítomnosť týchto útvarov uľahčuje diferenciálnu diagnostiku, pretože mycetómy sa môžu vytvárať aj pri ochoreniach vyvolaných aktinomycétami, pre ktoré je charakteristická tvorba rozvetvených vlákien (nie sú prítomné septované hýfy).



Obr. 224. *Fusarium* (vľavo), *Madurella* (v strede), *Pyrenochaeta* (vpravo).

https://www.researchgate.net/figure/Pyrenochaeta-unguis-hominis-Lactophenol-stain-400-magnification_fig5_332004935

Ochorenia, diagnostika a liečba

Pre **eumykotický mycetóm** je charakteristická tvorba deformujúcich, napuchnutých lézií, infikované tkanivo je postihnuté chronickým zápalom, fibrózou. Typická je tvorba drénujúcich sínusov a prítomnosť granúl, ktoré sú tvorené septovanými hýfami. Infekcia sa môže šíriť a postihnúť lokálne svaly alebo kosti. Hematogénny rozsev je extrémne zriedkavý. Laboratórna diagnostika sa opiera o prítomnosť zŕn alebo granúl v bioptických vzorkách, v ktorých sú dobre viditeľné hýfy. Liečba je problematická, podáva sa amfotericin B alebo itroconazol, ktoré spomaľujú vývoj infekcie. Pri rozsiahlych mycetómoch je nutné uvažovať o amputácii. V rámci diferenciálnej diagnostiky je potrebné odlišiť baktériovú etiológiu mycetómu.



Obr. 225. Eumykotický mycetóm.

<https://dermnetnz.org/topics/mycetoma/>

Subkutánna feohyfomykóza

Pheoacremonium

Exophiala

Bipolaris

Alternaria

Charakteristika

Pôvodcovia subkutánnej feohyfomykózy rastú ako čierne plesne. Hýfy sú rozvetvené, septované. V tkanivách sú prítomné vo forme kvasinkovitých buniek s tmavou stenou a nepravidelným tvarom.



Obr. 226. *Pheoacremonium* (vľavo), *Bipolaris* (v strede), *Alternaria* (vpravo).

<https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/phaeoacremonium/>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Infekcia sa typicky prejavuje ako solitárna zápalová cysta, najčastejšie na chodidlách alebo nohách, menej často sa vyskytuje na rukách. Cysty sa vyvíjajú mesiace až roky. Excízia cysty a ich následné vyšetrenie potvrdia diagnózu. Mikroskopické vyšetrenie ukáže prítomnosť typických hubových elementov v zhlukoch. Liečba je založená na odstránení cysty, podáva sa itraconazol a flucytozín.



Obr. 227. Subkutánna faeohyfomykóza.

<https://www.semanticscholar.org/paper/Subcutaneous-phaeohyphomycosis-in-an-Individual%3A-A-Chintagunta-Arakkal/aa8b84227e5f2e55950ab4af3db64140a25bea99/figure/0>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Infekcia sa typicky prejavuje ako solitárna zápalová cysta, najčastejšie na chodidlách alebo nohách, menej často sa vyskytuje na rukách. Cysty sa vyvíjajú mesiace až roky. Excízia cyst a ich následné vyšetrenie potvrdia diagnózu. Mikroskopické vyšetrenie ukáže prítomnosť typických hubových elementov v zhlukoch. Liečba je založená na odstránení cyst, podáva sa itraconazol a flucytozín.

Kazuistika

U mladej ženy sa vyvinuli supuratívne, uzlovité lézie na koži palca na ruke, ktoré sa postupne rozšírili na predlaktie. Tieto príznaky sa objavili po tom, ako žena prerezávala záhon ruží v záhrade.

Ktorý z nasledujúcich mikroorganizmov je pravdepodobne etiologickým agensom ochorenia?

- *Phialophora*
- *Bipolaris*
- *Sporotrix*
- *Exophiala*

Aké sú možnosti diagnostiky tohto ochorenia?

Aké sú možnosti liečby?

3.6 Systémové mykózy

Systémové mykózy sú vyvolané hubami, ktoré môžu spôsobiť ochorenia nielen u osôb s oslabenou imunitou, ale aj u imunokompetentných jedincov. Systémové mykózy sa obvykle dostanú do tela človeka inhalačnou cestou a majú schopnosť šíriť sa do ostatných vnútorných orgánov. Tieto ochorenia sú označované aj ako endemické mykózy, pôvodcami sú obvykle dimorfné huby *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, ktoré sú **obligátne patogénne** a môžu vyvolať infekcie aj u zdravých osôb.

Blastomykóza

Blastomyces dermatitidis

Charakteristika

B. dermatitidis je dimorfná huba, vyskytuje sa endemických oblastiach (juhovýchodná Amerika, Afrika, menej často Európa). Vo forme plesne produkuje typické okrúhle až hruškovité konídiá. Pre kvasinkovú formu sú charakteristické okrúhle, mnohoadrové bunky, ich stena má dve kontúry.

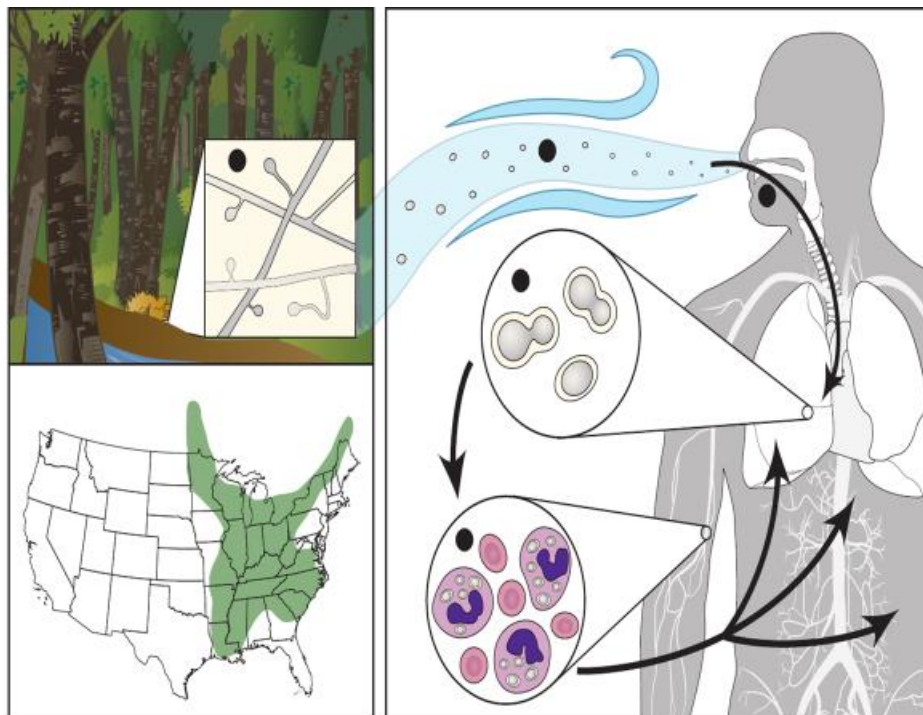


Obr. 228. *Blastomyces dermatitidis*.

<http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=2393>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Blastomykóza vzniká po inhalácii konídií, primárne postihuje pľúca. Ochorenie môže viesť až k respiračnému zlyhaniu, niekedy imituje tuberkulózu alebo pľúcny karcinóm. Extrapulmonálna blastomykóza postihuje kožu, kosti, urogenitálny trakt alebo centrálny nervový systém. V diagnostike sa využíva mikroskopia a kultivácia. Prítomnosť pučiacich kvasiniek potvrdí diagnózu. Liečba je založená na podávaní amfotericínu B a azolových preparátov.



Obr. 229. Blastomykóza – cesta prenosu, endemické oblasti v USA.

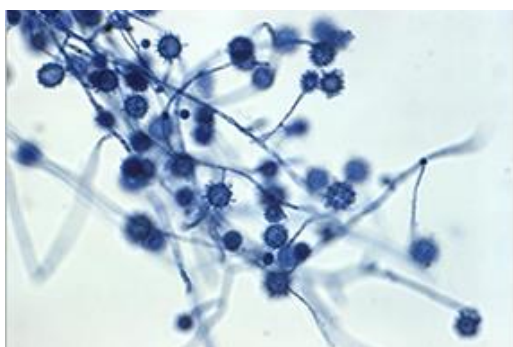
<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/blastomycosis/causes.html>

Histoplazmóza

Histoplasma capsulatum

Charakteristika

Dimorfná huba, plesne vytvárajú biele alebo hnedé hýfy, kvasinky sú v tkanivách uložené intracelulárne. Vyskytuje sa najmä v Severnej Amerike a v centrálnej a južnej Afrike, je prítomná v pôde, vo výlučkoch vtákov a netopierov.



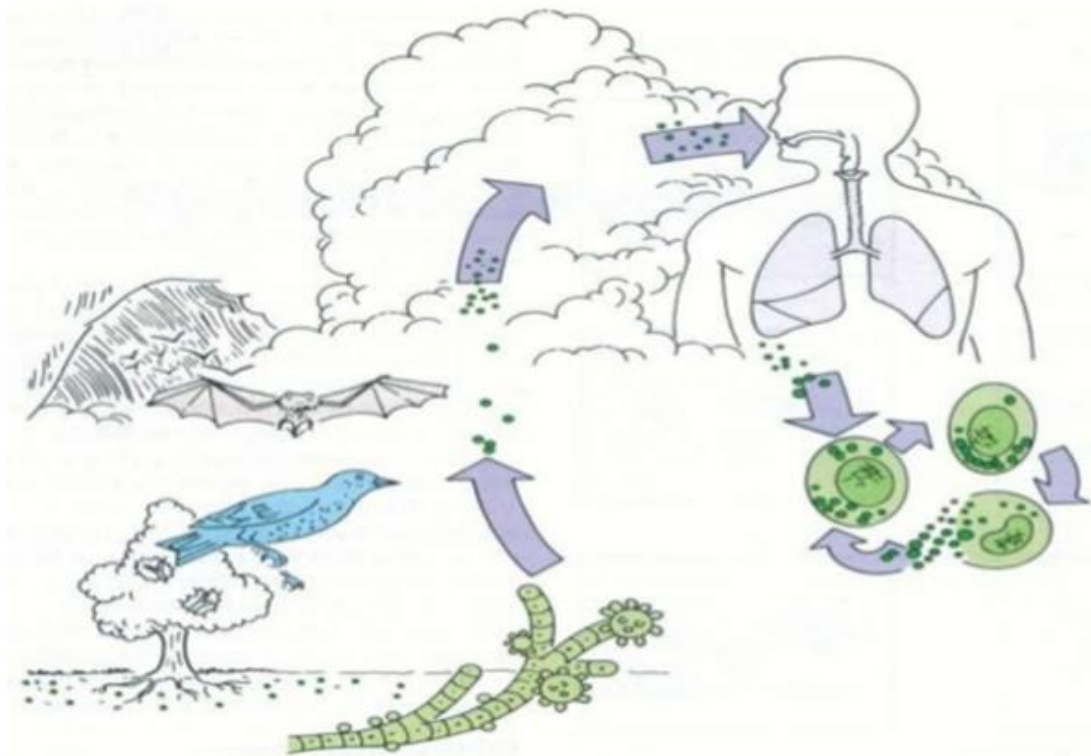
Obr. 230. *Histoplasma capsulatum*.

<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/histoplasmosis/index.html>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Histoplazmóza môže prebiehať ako asymptomatické ochorenie u zdravých jedincov a pri nízkej infekčnej dávke. Diseminované ochorenie vzniká u imunokompromitovaných pacientov alebo u detí, je charakterizované postihnutím pľúc (pľúcne

infiltráty), vyvíja sa mediastinálna fibróza, perzistujúca lymfadenopatia, obštrukcia bronchov. Ku komplikáciám diseminovaného ochorenia patria artritídy a perikarditída. Ak nie je adekvátne liečená, histoplazmóza môže zapríčiniť úmrtie v priebehu niekoľkých dní alebo týždňov. V diagnostike histoplazmózy sa používa priama mikroskopia, detekcia antigénu v krvi alebo v moči. V mikroskopických preparátoch z tkaniva sú prítomné kvasinky s pučiacimi výbežkami, lokalizované intracelulárne. Liekom voľby je amfotericín B, podávajú sa aj azolové preparáty.



Obr. 231. Histoplazmóza – prenos.

<https://www.slideshare.net/shahmanthan24/histoplasmosis-mycology-epidemiology-laboratory-diagnosis>

Coccidioidomykóza

Coccidioides immitis, *Coccidioides posadasii*

Charakteristika

Sú to dimorfné huby, plesňová forma je charakterizovaná bielymi až šedými vlhkými kolóniami (pripomínajúcimi kvety), ktoré vyrastajú za 3-4 dni. Hýfy produkujú prerušované artrokonídiá (oddelené disjunkturóvými bunkami). Konídiá majú po uvoľnení typický súdkovitý tvar („barrel shape“). Artrokonídiá sa postupne stávajú guľatými a v pľúcach sú potom viditeľné ako sfery naplnené endospórmi. Tieto patogény sa endemicky vyskytujú v Severnej Amerike, v Mexiku a na juhu Afriky.



Obr. 232. *Coccidioides immitis*.

<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/coccidioidomycosis/index.html>

Ochorenia, diagnostika a liečba

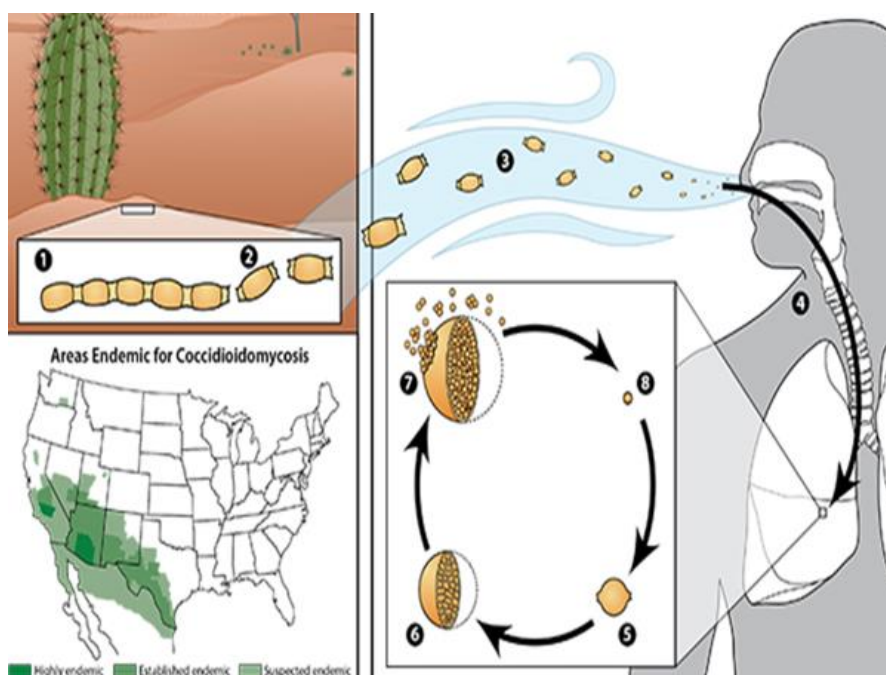
Coccidioides vyvoláva asymptomatické pľúcne ochorenia u pacientov bez porúch imunity. **Coccidioidomykóza** u ľudí s nedostatočnou imunitou spôsobuje pľúcne ochorenia, rôzne alergické reakcie, ktoré vznikajú ako odpoveď na tvorbu imunokomplexov (erytematózny raš, erythema multiforme, erythema nodosum). Progresia neliečeného ochorenia vedie k multisystémovej diseminácii do kože, mäkkých tkanív, kostí, kĺbov a do centrálného nervového systému. Ochorenie často prechádza do chronicity, mortalita neliečených diseminovaných infekcií je približne 90%.



Obr. 233. Coccidioidomykóza – kožné prejavy

<https://www.msmanuals.com/en-pt/home/infections/fungal-infections/coccidioidomycosis>

Priama mikroskopická vizualizácia sferúl s endospórmi výrazne uľahčuje diagnostiku ochorenia. Používajú sa aj sérologické metódy (kožný test, latexová aglutinácia, komplementfixačná reakcia). Vzrastajúce titre protilátok sú zlým prognostickým znakom. Amfotericín B a azolové preparáty sa podávajú pacientom so zníženou obranyschopnosťou a pacientom s vážnymi pľúcnymi a meningeálnymi formami infekcie.



Obr. 234. Coccidioidomycóza – prenos, endemické územia v USA.
<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/coccidioidomycosis/causes.html>

Paracoccidioidomycóza

Paracoccidioides brasiliensis

Charakteristika

Je to dimorfná huba, kvasinkové formy sú okrúhle alebo oválne s pučiacimi výbežkami, ktoré majú veľmi charakteristický vzhľad („lodné kormidlo“). Vyskytuje sa predovšetkým v Strednej a Južnej Amerike.

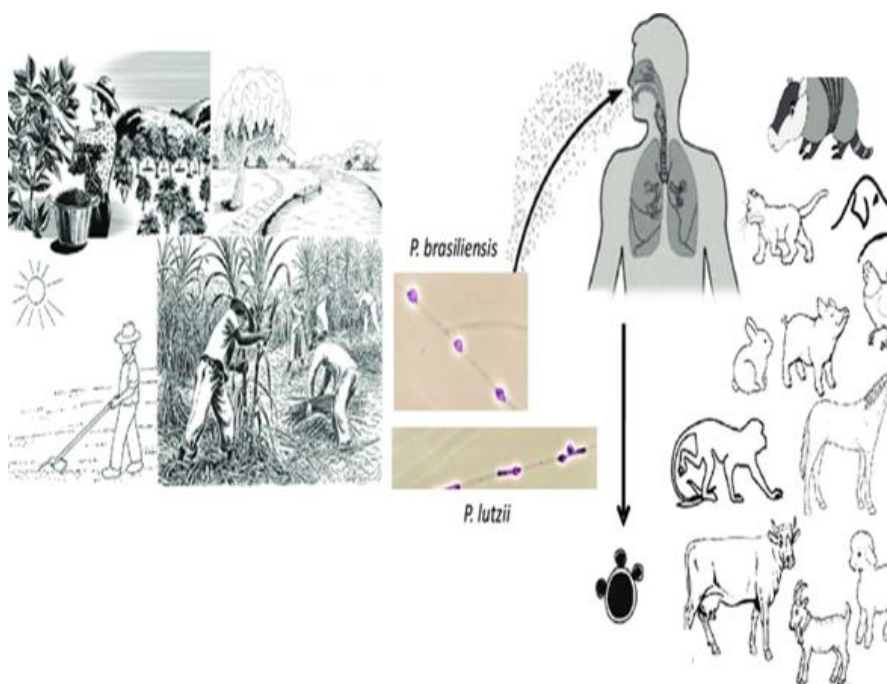


Obr. 235. *Paracoccidioides brasiliensis* („lodné kormidlo“).
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/49/Paracoccidioides_brasiliensis_01.jpg

Ochorenia, diagnostika a liečba

Paracoccidioidomycóza je systémové ochorenie, primárne postihuje pľúca. Subakútne diseminované formy sú časté u mladých ľudí a imunokompromitovaných osôb. Prejavujú sa ako lymfadenopatia, zväčšenie orgánov, poškodenie kostnej drene a kĺbov a kostí (môže imitovať osteomyelitídu). Diagnostika je založená na charakteristickom

mikroskopickom obraze, je možné stanoviť protilátky sérologickými testami. Itrakonazol je liekom voľby, vážnejšie formy sa liečia amfotericínom B.



Obr. 236. Paracoccidioidomykóza – prenos.

https://www.researchgate.net/figure/Spread-of-Paracoccidioides-brasilensis-and-Paracoccidioides-lutzi-Pb_fig1_318553535

Kazuistika

44-ročný muž zo štátu Iowa čistil komín. Pustil do neho čistiacu guľu, ktorá spadla dole a rozvírila veľké množstvo prachu, nečistôt a peria. O desať dní jeho manželka a syn, ktorý sa často zdržiavali v izbe s krbom, boli obaja hospitalizovaní, mali horúčku a silný kašeľ. U oboch sa RTG vyšetrením zobrazili difúzne infiltráty v pľúcach.

Aká je pravdepodobná diagnóza matky a syna:

- kandidóza
- legionárska choroba
- histoplazmóza
- blastomykóza

Aké laboratórne vyšetrenia pomôžu potvrdiť diagnózu?

Ako by ste liečili týchto pacientov?

3.7 Oportúnne mykózy

V posledných desaťročiach majú invazívne mykózy vyvolané oportúnnymi hubami stúpajúcu tendenciu. Oportúnne mykózy sú vyvolané hubami, ktoré sú normálne prítomné ako komenzály v ľudskom tele (*Candida*) alebo v prostredí. S výnimkou *Cryptococcus* majú tieto huby nízky patogénny potenciál a vyvolávajú oportúnne infekcie hlavne u imunokompromitovaných osôb. Najčastejšie sú to rody *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* a *Cryptococcus*. (*Cryptococcus* niekedy môže vyvolávať aj systémové ochorenia u zdravých ľudí).

Medzi predisponujúce faktory vzniku oportúnnych mykóz patria:

- liečba širokospektrálnymi antibiotikami
- liečba kortikosteroidmi
- chemoterapia
- hematologické alebo orgánové malignity
- parenterálna výživa
- neutropénia
- rozsiahle chirurgické výkony a rozsiahle popáleniny
- asistovaná ventilácia
- hemodialýza, peritoneálna dialýza
- malnutícia
- HIV/AIDS
- vysoký vek

Candida

Charakteristika

Príslušníci rodu *Candida* kolonizujú ľudské telo, sú súčasťou fyziologickej mikróflóry gastrointestinálneho traktu (od úst až po rektum), sú prítomné vo vagíne, v uretre a na koži. Najčastejším etiologickým agensom ľudských ochorení je *C. albicans*. Kandidy sú oválne kvasinkovité bunky, tvoria blastokonídiá. Niektoré druhy vytvárajú pseudohýfy. Pre *C. albicans* sú charakteristické germinálne tubuly (tzv. „GT útvary“ - vid' úlohy na praktické cvičenia).



Obr. 237. Príklady ochorení vyvolaných kandidami – infekcia oka, kože, úst.

<https://www.wildmedcenter.com/blog/fungal-infections>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Kandidy môžu vyvolať infekciu ktoréhokoľvek orgánového systému. Ochorenia zahŕňajú superficiálne slizničné a kožné kandidózy, hematogénnu disemináciu do pečene, sleziny, obličiek, srdca a mozgu, orofaryngeálne infekcie, ezofagitídu,

vulvovaginálne a močové infekcie, pneumóniu, endokarditídu, perikarditídu, očné infekcie, ochorenia kĺbov a kostí, abdominálne infekcie. Mikroskopické vyšetrenie príslušných klinických vzoriek potvrdí prítomnosť kvasinkovitých pučiacich buniek. Na kultiváciu sa používajú selektívne médiá (CHROMOagar Candida), ktoré umožňujú rýchlu identifikáciu jednotlivých kandid. Na lokálnej liečbe sa používajú prípravky s obsahom azolových antimykotík, orálne sa používa flukonazol, pri rezistencii amfotericín B.



Obr. 238. *Candida albicans* – kolónie na Sabouraudovom agare.

<https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-photos/candida-albicans-photos/candida-albicans-sabouraud.html>

Aspergillus

Charakteristika

Aspergily sú prítomné v prostredí, rastú vo forme rozvetvených hýf. Kolónie aspergilov (plesňová forma) sú rôznych farieb (čierne, hnedé, zelené, žlté, biele).



Obr. 239. Kolónie *Aspergillus* a *Penicillium*.

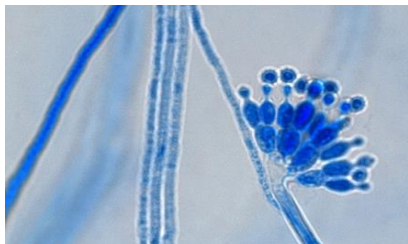
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e7/Ascomycetes.jpg>

Hýfy sú septované, konídiofóry majú terminálne vezikuly, na ktorých sa nachádzajú phialidy (sterigmata). Produkujú stĺpce sférických konídií, ktoré sú infekčné, nachádzajú sa v pôde, sú prítomné v nemocničnom prostredí.

Ochorenia, diagnostika a liečba

Aspergilly vyvolávajú široké spektrum infekcií. Spôsobujú **alergické reakcie** v nosovej dutine, paranazálnych dutinách a v dolných dýchacích cestách. Kolonizácia aspergilmi vedie k obštrukcii paranazálnych dutín, bronchov, môžu sa vytvárať ložiská v pľúcach. Limitované **invazívne infekcie** sa prejavujú u ľudí s miernym imunodeficitom,

postihujú hlavne priedušky a pľúcny parenchým. U pacientov s vážnymi poruchami imunity vyvolávajú systémové diseminované ochorenia, ktoré môžu viesť až k smrti pacienta.



Obr. 240. *Aspergillus calidoustus* – metuly a phialidy.

<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.sk/2012/10/p.html>

Diagnostika je založená na mikroskopickom náleze septovaných, dichotomicky rozvetvených hýf v histologických preparátoch a na charakteristickej morfológii (konidiofóry, vezikuly, phialidy, konídiá). Na rýchlu diagnostiku invazívnej aspergilózy sa používajú metódy na stanovenie aspergilového galaktomanánu v sére. Na liečbu sa používa vorikonazol, ktorý je účinnejší a menej toxický ako amfotericín B. Odporúča sa aj chirurgické odstránenie postihnutých tkanív.

Tabuľka 54. Spektrum ochorení vyvolaných *Aspergillus* spp.

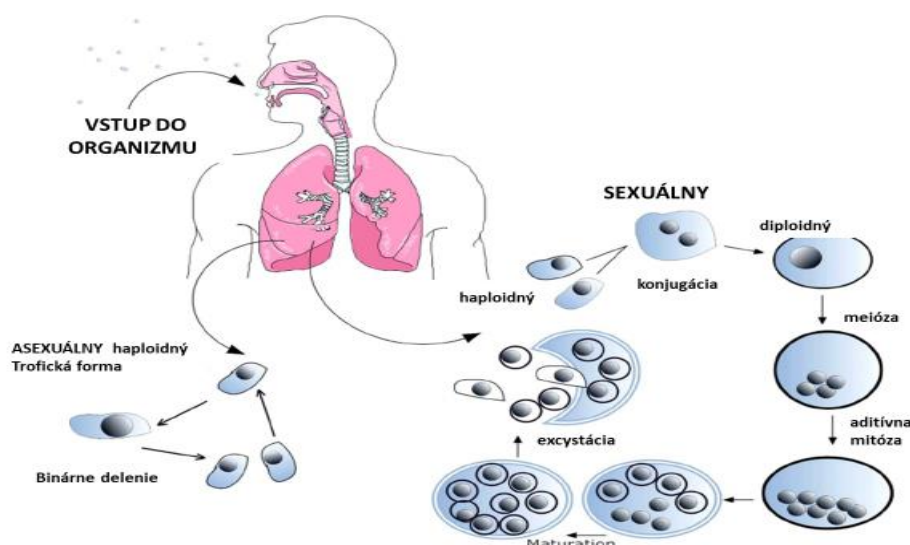
ASPERGILLUS SPP. - OCHORENIA	
Alergické reakcie	<ul style="list-style-type: none"> - nosová dutina - paranazálne dutiny - dolné dýchacie cesty
Kolonizácia	<ul style="list-style-type: none"> - upchaté paranazálne dutiny - bronchy - dutiny vytvorené v pľúcach
Superficiálne kožné infekcie	<ul style="list-style-type: none"> - rany - miesta okolo zavedených katétrov
Limitované invazívne ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> - bronchy - pľúcny parenchým - mierne imunokompromitované osoby
Priame invazívne pľúcne infekcie	<ul style="list-style-type: none"> - osoby s vážnym imunodeficitom - systémová diseminácia - môžu byť smrteľné

Pneumocystis jirovecii

Charakteristika

Pneumocystis jirovecii bol pôvodne zaradený medzi protozoa, v súčasnosti je na základe molekulárnych a genetických vlastností zaradený medzi hub. Je najčastejším oportúnnym patogénom, ktorý vyvoláva infekcie u pacientov s AIDS. Životný cyklus *Pneumocystis jirovecii* má sexuálnu aj asexuálnu fázu. Počas infekcie môže v ľudskom tele existovať ako voľne žijúca trofická forma, alebo ako sporocysta či ako cysta, ktorá

obsahuje osem ovoidných intracystických teliesok. Rezervoár nie je známy. Pôvodne boli tieto organizmy považované za protozoa.

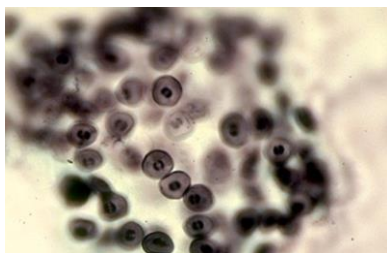


Obr. 241. *Pneumocystis jirovecii* – životný cyklus.

https://www.researchgate.net/figure/Putative-life-cycle-of-Pneumocystis-i-Infection-The-agent-of-infection-is-suspected_fig3_23939063

Ochorenia, diagnostika a liečba

Infekcia postihuje takmer výlučne pacientov s poruchami imunity. Vstupnou bránou pre infekciu je respiračný trakt, vyvíja sa intersticiálna pneumónia. Extrapulmonálna manifestácia je typická u pacientov s AIDS, ochorenie postihuje lymfatické uzliny, slezinu, pečeň, kostnú dreň a štítnu žľazu. Diagnóza sa robí pomocou mikroskopického vyšetrenia klinických materiálov vrátane bronchoalveolárnej laváže, spúta a bioptických vzoriek. Ochorenie sa lieči trimetoprim-sulfametoxazolom, u pacientov s AIDS sa používa aj pentamidín, trimetoprim-dapson a clindamycín-primaquin.



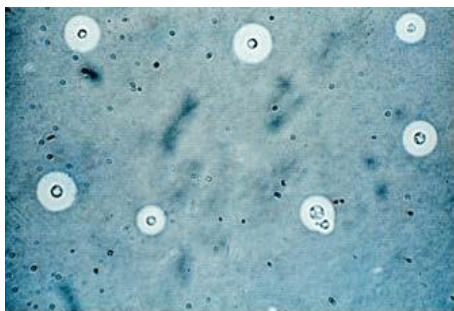
Obr. 242. *Pneumocystis jirovecii* – cysty v tkanive.

<https://ppdictionary.com/mycology/jiroveci.htm>

Cryptococcus neoformans

Charakteristika

Cryptococcus neoformans je monomorfná huba, vyskytuje sa v kvasinkovej forme, je opuzdrený. Množí sa pučaním. V klinickom materiále sa nenachádzajú germinálne tubuly, hýfy ani pseudohýfy. Do ľudského tela sa dostáva inhalačnou cestou.

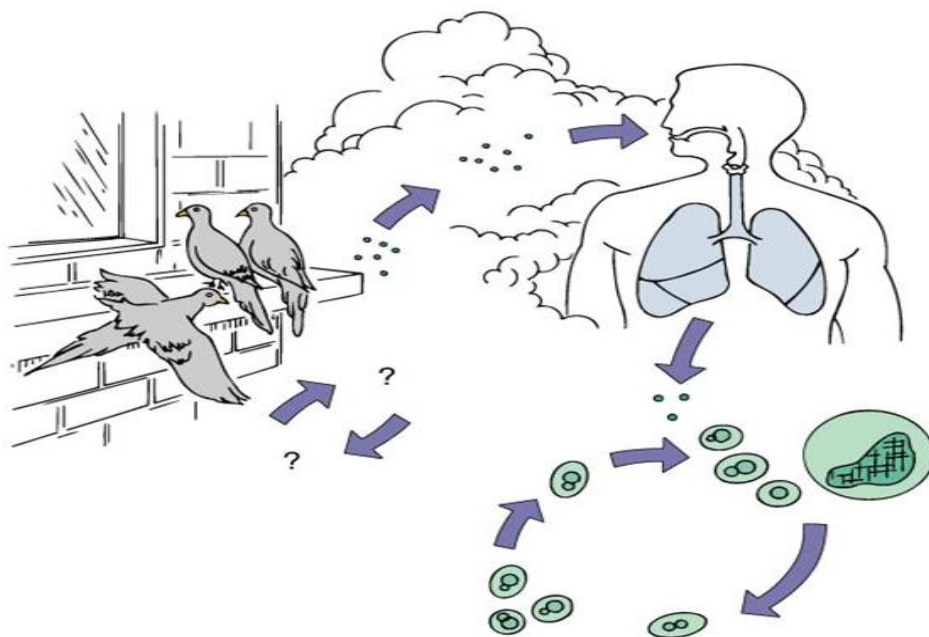


**Obr. 243. *Cryptococcus neoformans* – opuzdrená kvasinkovitá forma.
Farbenie tušovou metódou.**

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6f/Cryptococcus_neoformans_using_a_light_India_ink_staining_preparation_P_HIL_3771_lores.jpg

Ochorenie, diagnostika a liečba

Aj keď *C. neoformans* môže byť patogénny aj pre osoby s normálne fungujúcou imunitou, obvykle spôsobuje oportúnnu infekciu – **kryptokokózu** u imunokompromitovaných pacientov. Po vdýchnutí dochádza k diseminácii kvasinkových foriem z pľúc do centrálného nervového systému.



Obr. 244. *Cryptococcus neoformans* – cesta prenosu.

<https://slideplayer.com/slide/10687427/>

C. neoformans je výrazne neurotropný, patrí k najčastejším vyvolávateľom mykotických meningitíd. Menej často sa vyskytujú kožné, mukokutánne, kostné alebo viscerálne formy ochorenia. Primárna kožná kryptokokóza vzniká po inokulácii do kože, je vzácna. Diseminovaná kryptokokóza môže postihnúť kožu (pripomína molluscum contagiosum), oko (chorioretinitída, invázia do očného nervu), kosti (rebrá) a prostatu.



Obr. 245. Primárna kožná kryptokokóza.

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962011000600018&lng=en&nrm=iso&tlng=en

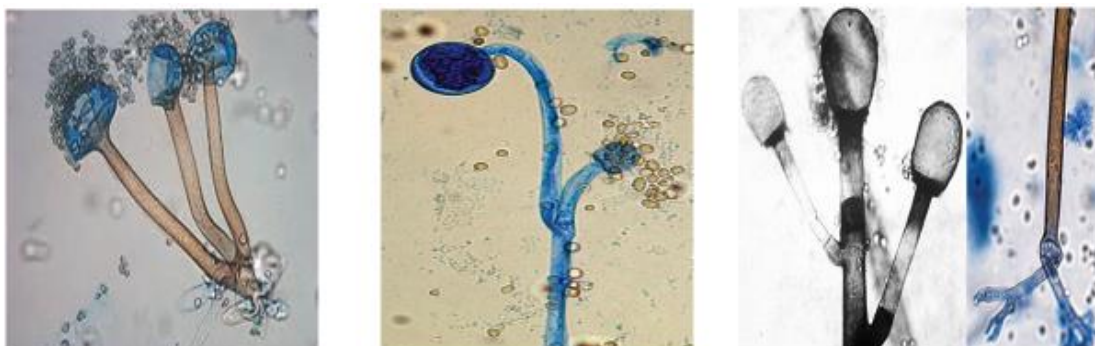
Prítomnosť charakteristických opuzdrených kvasiniek v likvore je významná pre identifikáciu patogéna, používa sa farbenie podľa Grama alebo Burriho tušová metóda. Na kultivačných médiách rastie vo forme mukózných kolónií. Kryptokokovú meningitídu je možné identifikovať aj na základe priamej detekcie kapsulárneho antigénu v krvi a v likvore. Neliečená kryptokoková meningitída je obvykle fatálna, je potrebná promptná terapia, podávajú sa amfotericín B a flucytozín (2 týždne), perorálne sa podáva flukonazol ďalších osem týždňov.

Mukormykóza

Je to oportúnna infekcia vyvolaná hubami z rádu Mucorales (rody *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor* a iné). Mukormykóza je pomerne zriedkavá, ak sa objaví, má obvykle akútny priebeh s rapidnou progresiou, mortalita je vysoká - 70% - 100%.

Charakteristika

Makroskopicky tieto huby produkujú šedé až hnedé kolónie vlneného vzhľadu. Mikroskopicky sú to plesne so širokými, riedko septovanými alebo céncytickými hýfami. Asexuálne spóry sa nachádzajú v sporangióch, nazývajú sa sporangiospóry. Prítomnosť rhizoidov (štruktúr pripomínajúcich korene) pomáha pri identifikácii. Huby sa nachádzajú v pôde a v odumierajúcej vegetácii, do ľudského tela sa dostávajú inhaláciou, ingesciou alebo cez poranenia na koži a slizniciach.



Obr. 246. *Rhizopus* (vľavo), *Mucor* (v strede), *Rhizomucor* (vpravo).

<https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/zygomycetes/rhizomucor/>

Ochorenia, diagnostika a liečba

Rinocerebrálna mukormykóza je invazívne ochorenie postihujúce nosovú dutinu, paranzálne dutiny, orbitu a mozog a mozgové obaly. Ochorenie najčastejšie postihuje osoby s metabolickou acidózou a pacientov s hematologickými malignitami. **Pľúcna mukormykóza** môže imitovať aspergilózu. Postihnutie **gastrointestinálneho traktu** vedie k masívnemu krvácaniu a k perforáciám čreva. **Kožná mukormykóza** sa prejavuje tvorbou nodulárnych lézií, rýchlo sa šíri do podkožia. Diagnostika je založená na mikroskopii, kultivácii, sérologické testy nie sú zatiaľ dostupné. Amfotericín B je liekom voľby, často je potrebné chirurgické odstránenie postihnutého tkaniva. Azolové preparáty zvyčajne nie sú účinné (rezistencia). Prognóza ochorenia je vo všeobecnosti pomerne zlá.

Kazuistika

54-ročný muž s chronickou obštrukčnou chorobou pľúc ochorel na infekciu dýchacích ciest, vykašľoval spútum s prímiesou krvi. RTG hrudníka zobrazilo guľovitú masu a dávnejšie vytvorenú dutinu v pravom hornom pľúcnom laloku.

Ktorý z nasledujúcich mikroorganizmov pravdepodobne spôsobil infekciu u pacienta?

- *Candida albicans*
- *Aspergillus* spp.
- *Cryptococcus neoformans*
- *Pneumocystis jirovecii*

Ako by ste potvrdili diagnózu?

Ako by ste liečili pacienta?

Tabuľka 55. Ochorenia vyvolané hubami – prehľad.

Typ a miesto infekcie	Ochorenie	Mikroorganizmy
Povrchové Limitované na vonkajšie vrstvy kože a vlasov	Pityriasis versicolor Tinea nigra čierna/biela piedra	<i>Malassezia</i> <i>Exophiala</i> <i>Trichosporum</i>
Kožné Postihuje epidermis a keratinizované oblasti (koža, vlasy, nechty)	Ochorenie kože (tinea), ochorenie vlasov a nechťov (dermatomykóza)	<i>Trichophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Epidermophyton</i>
Podkožné Postihuje dermis, podkožné tkanivá a svaly	Lymfokutánná sporotrichóza Chromoblastomykóza Eumykotický mycetom	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Madurella grisea</i>
Systémové Pôvod majú obvykle v pľúcach, fagocytované makrofágmi, šíria sa do mnohých orgánov. Mnohé primárne infekcie sú inaparentné, symptomy môžu progredovať pri pulmonárnych alebo ulceratívnych léziách. Imunitná odpoveď vedie k tvorbe syncýcií, fibróz, granulómov a kalcifikovaných lézií. Vyvolávatelia sú dimorfné huby okrem <i>Cryptococcus sp</i>	Histoplazmóza Blastomykóza Parakokcidioidomykóza Kokcidioidomykóza	<i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> <i>Coccidioides immitis</i>
Oportúnne Obvykle vyvolávajú ochorenia u imunokompromitovaných, môžu spôsobiť postihnutie rôznych tkanív	Kandidóza Aspergilóza Zygomykóza Kryptokokóza – meningitída	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> tvorí puzdro

Úlohy na praktické cvičenia

A. Odber materiálu na mykologické vyšetrenie

Pokyny k odberu – dermatofyty

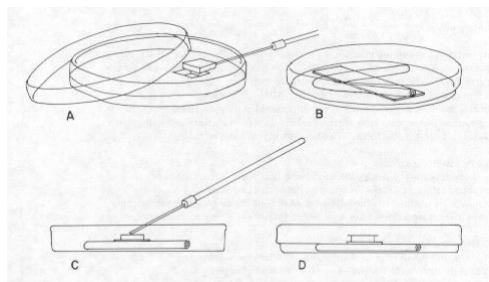
Materiál odoberáme tak, aby zostal v suchom stave. Takto odobratý materiál je použiteľný na spracovanie aj po viacerých dňoch. Ak je materiál vlhký, môže byť rýchlo znehodnotený kontamináciou rýchlo rastúcich saprofytov a baktérií. Materiál v tomto prípade treba doručiť na spracovanie do laboratória v deň odberu. **Kožné šupiny** odoberáme sterilným skalpelom po predchádzajúcom odmastení ložiska 70 % alkoholom zoškrabkaním drobných častíc do sterilnej skúmavky. Materiál odoberáme z okrajov ložiska na rozhraní zdravého a chorobne zmeneného tkaniva, kde predpokladáme najväčší počet viabilných elementov húb. **Nechty**- pri onychomykózach musíme získať častice z vnútornej, s nechťovým lôžkom súvisiacej steny nechťovej platničky. Na vyšetrenie sú najlepšie častice podnechtových hyperkeratóz. Odber z povrchu nechťu má význam len pri tzv. „bielej povrchovej onychomykóze“. Po

dôkladnom očistení nechtovej platničky 70 % alkoholom odstránime distálny okraj nechta a odstránime detritus, ktorý je zachytený pod voľnou časťou nechtovej platničky (kultivácia tohto materiálu obsahujúca predovšetkým baktérie a hubové saprofyty nie je vhodná a vedie často k nežiaducim kontamináciám a k falošným výsledkom). Sterilným skalpelom alebo malou sterilnou kyretou zoškrabeme keratinovú hmotu z dostupnej vnútornej časti nechtovej platničky na rozhraní chorej a zdravej časti nechta. Pokiaľ boli prejavy dermatomykóz ošetrované lokálnymi antimykotikami, je potrebné po ich dôkladnom očistení s odberom počkať 10 - 35 dní. Pri onychomykózach liečených perorálnymi antimykotikami je kontrolné vyšetrenie vhodné s časovým odstupom 6 týždňov až 3 mesiace po ukončení liečby. **Vlasy a chlpy** odoberáme epilačnou pinzetou, odoberáme predovšetkým zmenené zvyšky, kýpte po odlomených vlasoch a chlpoch. Pri podozrení na infekciu dermatofytmi sa snažíme odobrať folikulárnu časť vlasov. Odber strihaním vlasov nožnicami nad úrovňou pokožky je bezcenný, a preto ho nevykonávame. Najvhodnejším miestom na získanie bazálnych častíc vlasov sú opäť okraje lézií. Vždy berieme na vyšetrenie aj šupinky z lézií.

Pokyny k odberu – vlákňité huby

Vzorku na mykologické vyšetrenie pri podozrení na vlákňité huby zasielame zásadne samostatne kvôli zachytynosti. **Výter z ucha** - tampón vložíme do transportného média (napr. AMIES), **výter zo spojovkového vaku**, spútum odoberáme ráno pri prvej expektorácii, pri bronchoskopii alebo transtracheálnou punkciou a aspiráciou. **Bronchoalveolárna laváž (BAL)** - zmes sekrétu s fyziologickým roztokom sa odsaje a zasiela na vyšetrenie v sterilnej nádobke alebo skúmavke, **transtracheálny aspirát, aspirát z prínosových dutín, operačný materiál (tkanivo, tekutina, výter), pitevný materiál (tkanivo, tekutina, výter)** - sterilne odobraté tkanivo vložíme do sterilnej odberovej nádobky a čo najskôr doručíme do laboratória. **Mozgomiechový mok** sa odoberá lumbálnou punkciou prísne asepticky, do sterilnej skúmavky v množstve minimálne 1 ml. V prípade, že likvor nemôžeme doručiť okamžite, uskladníme ho pri izbovej teplote na tmavom mieste. Odobratý likvor možno dať do chladničky. **Krv na hemokultiváciu** - odbery vzoriek robíme podľa teplotnej krivky a pri triaške. Odoberáme vzorku krvi v objeme 10 ml do každej hemokultivačnej nádoby. Prvú vzorku krvi odoberieme na začiatku stúpania teploty. Najvhodnejší je odber 1 hodinu pred očakávaným maximálnym vzostupom teploty. Druhú vzorku krvi odoberieme po hodine. Ak sme začali antibakteriálnu alebo antimykotickú terapiu, odoberáme krv pred pravidelnou dávkou lieku. Nádobky so vzorkami krvi treba nechať až do odoslania do laboratória pri izbovej teplote. Vzorky krvi v laboratóriu kultivujeme minimálne 5 dní, pri podozrení na mykotickú infekciu 14 dní.

B. Mikroskopia a kultivácia húb – bločky ryžového agaru

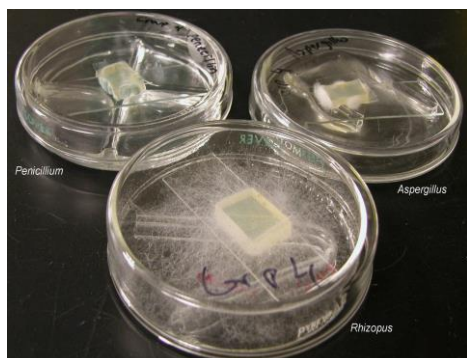


Obr. 247. Bločky ryžového agaru naočkované vpichom (*Candida albicans*).

V mikroskope pozorujeme charakteristické útvary, ktoré sa formujú počas kultivácie vo vlhkom prostredí a teplote 37°C.

Sabouraudov agar

Sabouraudov dextrózový agar je pôda na kultiváciu húb. Nízka hodnota pH (približne 5,6) vytvára priaznivé podmienky na rast húb, najmä dermatofytov a inhibuje rast kontaminujúcich baktérií v klinických vzorkách. Pridaním antimikrobiálnych látok sa zlepšuje množenie patogénnych húb zo vzoriek so silnou kontamináciou baktériami a saprofytickými hubami.



Obr. 248. Kultivácia plesní na bločkoch ryžového agaru.

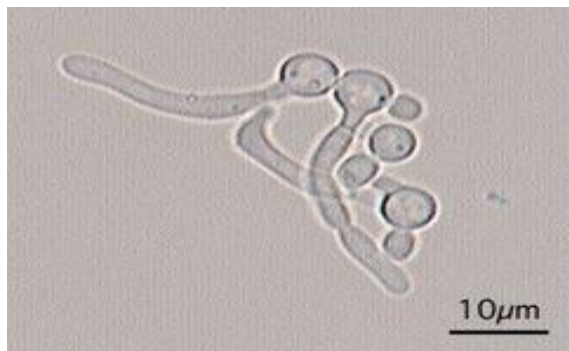
<http://www.studyblue.com/notes/note/n/lab-practical-ii/deck/4465548>

C. Biochemická diferenciácia kandid

Auxanogram - diferenciálna diagnostika na základe asimilácie cukrov a dusíkatých látok. Rast kmeňa je stimulovaný okolo disku s príslušným substrátom. **Zymogramy** sa používajú na dôkaz štiepenia cukrov s tvorbou kyseliny a plynu.

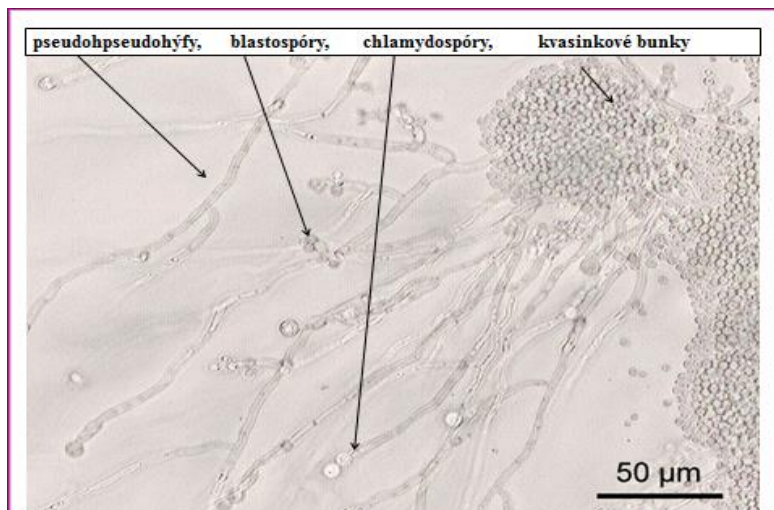
D. GT test (angl. germ tubes test)

Test na dôkaz tvorby germinálnych tubulov (GT test) je diagnostický test na odlíšenie *C. albicans* od ostatných kvasiniek. Vyšetrovaná kultúra sa zmieša so sérom a inkubuje sa pri teplote 37°C niekoľko minút. So suspenziou sa pripraví natívny preparát, ktorý mikroskopujeme. Prítomnosť germinálnych tubulov (šípka na obrázku) indikuje prítomnosť *C. albicans*.



Obr. 249. GT útvary.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/12/C_albicans_germ_tubes.jpg



Obr. 250. *C. albicans* – štruktúry viditeľné v mikroskope (kultivácia na bločkoch ryžového agaru).

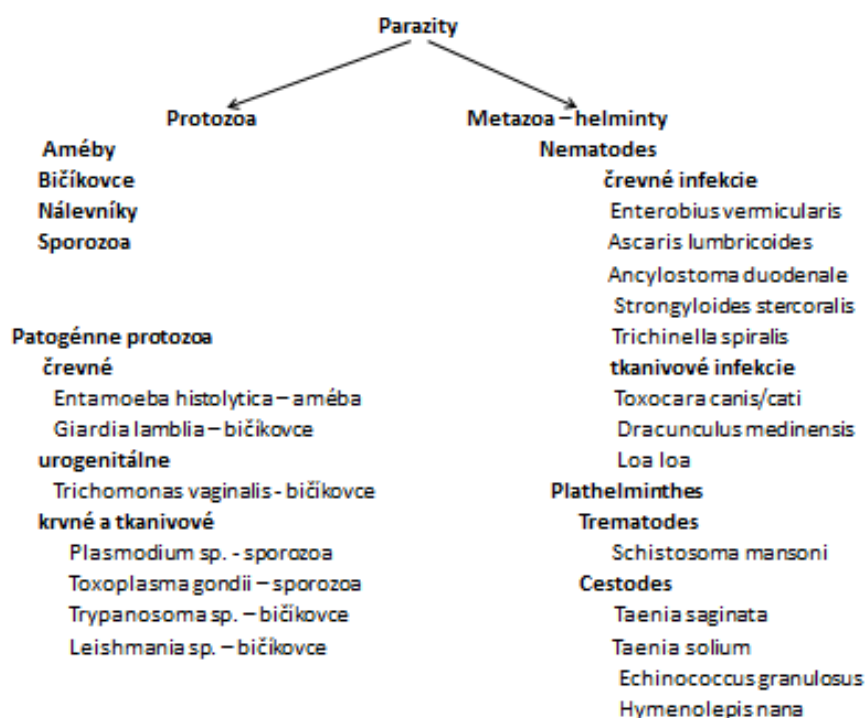
<http://www.studyblue.com/notes/note/n/lab-practical-ii/deck/4465548>

OTÁZKY

1. Aké sú základné charakteristiky húb?
2. Charakterizujte kvasinky.
3. Charakterizujte plesne.
4. Čo znamená označenie „dimorfné huby“ ?
5. Aká je patogenéza a imunita pri mykotických infekciách?
6. Ako sa odoberá materiál na mykologické vyšetrenie?
7. Aké sú princípy kultivácie húb?
8. Aké sú možnosti nepriameho dôkazu mykóz?
9. Ako rozdeľujeme antimykotiká a aké sú princípy liečby mykóz?
10. Ktoré huby vyvolávajú povrchové mykózy?
11. Aká je diagnostika a liečba povrchových mykóz?
12. Charakterizujte pityriasis versicolor.
13. Charakterizujte dermatofytózy.
14. Čo sú dermatofyty? Uveďte príklady.
15. Ktoré rody húb vyvolávajú najčastejšie podkožné mykózy?
16. Aké sú prejavy lymfokutánnej sporotrichózy?
17. Aké sú prejavy chromoblastomykózy?
18. Charakterizujte eumykotický mycetóm.
19. Aké sú prejavy subkutánnej faeohyfomykózy?
20. Ktoré huby patria medzi najčastejších vyvolávateľov systémových mykóz?
21. Aké sú prejavy histoplazmózy?
22. Aké sú prejavy coccidioidomykózy?
23. Aké sú prejavy paracoccidioidomykózy?
24. Charakterizujte príčiny vzniku, vyvolávateľov a klinické prejavy oportúnnych mykóz.
25. Charakterizujte infekcie vyvolané *Pneumocystis jirovecii*.
26. Ako sa prenáša a prejavuje kryptokokóza?
27. Ako sa prejavuje mukormykóza?
28. Aké pôdy sa používajú na kultiváciu húb?
29. Na čo slúži dôkaz tvorby germinálnych tubulov?

4 PARAZITY

Lekárska parazitológia študuje organizmy, ktoré sú schopné vyvolať ochorenia u človeka a iných živočíchov. V tejto kapitole je opísané základné rozdelenie parazitov a vybrané ochorenia, ktoré spôsobujú. Parazity sú organizmy, ktoré určitú časť svojho života (prípadne celý život) cudzopasia na povrchu tela (ektoparazity) alebo vo vnútri tela (endoparazity) hostiteľa. V užšom zmysle slova sa medzi parazity človeka zaraďujú cudzopasné prvoky, helminty a článkonožce.



Obr. 251. Rozdelenie medicínsky významných parazitov.

PRVOKY (PROTOZOA)

Prvoky sú jednobunkové živočíchy mikroskopických rozmerov, ktoré obsahujú pravé jadro (eukaryotické bunky). Jediná bunka, ktorá predstavuje celé ich telo je štrukturálne a fyziologicky vybavená tak, aby mohla vykonávať zložité životné funkcie, umožňujúce samostatnú existenciu. Protozoá majú rôzny tvar, veľkosť a morfológické detaily bunkových štruktúr. Podľa týchto znakov sa triedia do tried, radov, čeľadí, rodov, druhov. Mnohé sú voľne žijúce vo vode, v pôde. Medzi medicínsky významné prvoky patria meňavky, bičíkovce, ciliata a sporozoa.

Meňavky (améby)

Majú aktívne pohyblivé štádium – trofozoit. V priebehu vývoja sa môžu meniť na okrúhle viacjadrové cysty, ktoré sú odolné voči vonkajším vplyvom. Menia tvar tela, vytvárajú panôžky – pseudopódie – v smere pohybu (améboidný pohyb). U človeka parazitujú viaceré druhy améb: *Entamoeba histolytica*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia diploidea*.

Bičíkovce (flagellata)





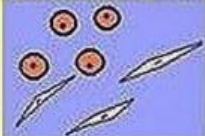
Od améb sa bičíkovce líšia v tom, že sa pohybujú pomocou bičíkov a undulujúcej membrány. Trofozoit môže mať viac jadier a počas vývoja sa mení na cystu odolnú voči vonkajším vplyvom. Živia sa osmoticky. U človeka parazitujú tieto druhy: *Giardia intestinalis*, *Chilomastix mesnili*, *Trichomonas hominis*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas vaginalis*, *Leishmania tropica*, *Leishmania brasiliensis*, *Leishmania major*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania aethiopica*, *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Trypanosoma rangeli*

Nálevníky (ciliata)

Sú to eukaryotické jednobunkové organizmy, žijú väčšinou v sladkých vodách. Na povrchu ich tela je pružná blana - pelikula. Telo je pokryté radom brv (cilií), ktoré slúžia na pohyb, ale i priháňanie potravy.

Apicomplexa – výtrusovce (sporozoa)

Organizmy patriace do kmeňa Apicomplexa sú charakteristické organelami, tvoriacimi typický apikálny komplex, ktoré majú úlohu pri vnikaní parazita do hostiteľských buniek. Ich vývojový cyklus je zložitý, striedajú sa v ňom nepohlavné (schizogónia, merogónia) a pohlavné (gamogónia, sporogónia) generácie a odohráva sa minimálne v dvoch hostiteľoch: **vo finálnom hostiteľovi** (prebieha v ňom sexuálna reprodukcia) a v **medzihostiteľovi** (prebieha v ňom nepohlavný reprodukčný cyklus).

Phylum	Všeobecný názov	Pohyb	Príklad
Sarcodina	sarcodines	<u>pseudopodia</u>	Amoeba 
Ciliophora	ciliates	<u>cilia</u>	Paramecium 
Sarco- mastigophora (Zoomastigina)	zooflagellates	<u>flagella</u>	Trypanosma  Giardia 
Apicomplexa (Sporozoa)	sporozoans	<u>none in adult form</u>	Plasmodium 

Obr. 252. Protozoa – klasifikácia

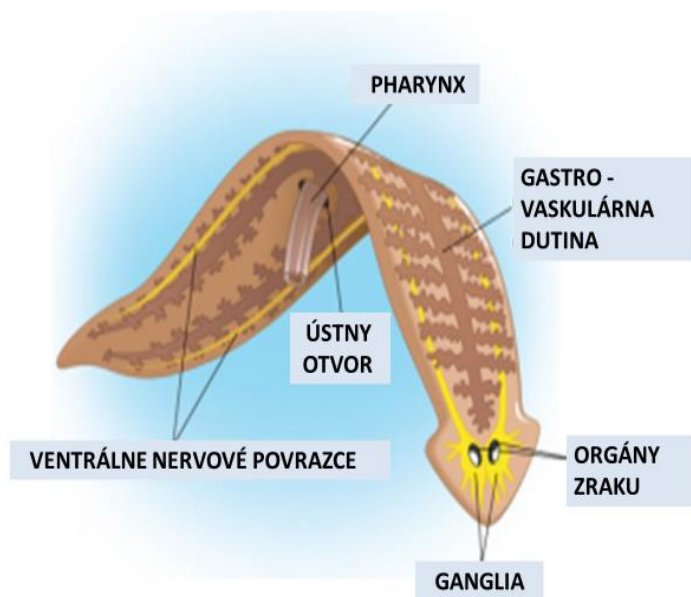
<https://www.bioscience.com.pk/topics/zoology/item/258-classification-of-protozoa>

ČERVY (HELMINTHES)

Parazitické červy sú viacbunkové organizmy s vyvinutou tráviacou, nervovou, exkretorickou a reprodukčnou sústavou. Lekársky významné sú podkmene a triedy:

PLOCHÉ ČERVY (PLATHELMINTHES)

Ploché červy majú charakteristickú stavbu tela, sú sploštené, majú tvar listu, sú hermafroditické, potrebujú medzihostiteľa na kompletizáciu vývojového cyklu. Intermediárnym hostiteľom sú mäkkýše.



Obr. 253. Ploché červy – stavba tela.

<https://biodiversityintrobio.wordpress.com/kingdom-animalia/phylum-platyhelminthes/>

Motolice (trematoda)

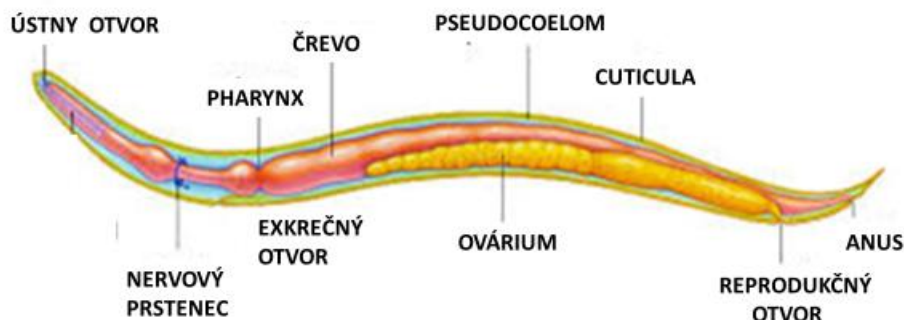
Sú to ploché červy, veľmi jednoduché, ale majú zložitý biologický cyklus. Charakteristickým znakom sú prísavky. Majú primitívnu tráviacu, nervovú aj exkretorickú sústavu. Sú to hermafrodity.

Pásomnice (cestoda)

Patria sem skupiny helmintov, ktoré sú výrazne adaptované na parazitický spôsob života. Ich vývin je nepriamy, v ktorom sa strieda jeden alebo dvaja medzihostitelia. Dospelé červy parazitujú spravidla v čreve, ich larvy v rôznych orgánoch medzihostiteľov. Majú ploché, článkované telo rozdelené na: hlavičku - *scolex*, nesegmentovaný *krčok* a telo – *strobila*, ktoré je rozčlenené na články - *proglotidy*. Sú dlhé od niekoľko centimetrov až do niekoľko metrov. Potravu prijímajú absorpciou celým telom, nemajú tráviacu sústavu. Až na niekoľko výnimiek sú hermafrodity, v každom článku je najmenej jedna kompletná sústava samčích a samičích pohlavných orgánov so samostatnými vývodmi. Vajíčka sa nachádzajú v koncových článkoch (tzv. gravidné proglotidy), ktoré sú celé vylučované so stolicou do prostredia. Preto samotné vajíčka sa v čerstvej stolici nenachádzajú.

OBLÉ ČERVY (NEMATHELMINTHES)

Sú červy s valcovitým, nečlánkovaným telom, na priereze okrúhle. Žijú buď voľne (pôda, sladká a slaná voda) alebo ako parazity rastlín a živočíchov. Prvotná telová dutina sa nazýva pseudocél. Pseudocél tvorí hydroskelet (koncentrujú sa tu odpadové látky z metabolizmu) a dáva telu tvar. Kutikula zabezpečuje ochranu pred vonkajšími vplyvmi, pri raste sa zvlieka, v prednej časti tela vyrastajú štetiny – zmyslový aparát tela. Tráviacu sústavu tvorí ústny otvor (cicavý orgán), črevo končí análnym otvorom.



Obr. 254. Oblé červy – stavba tela.

<http://microbiologynotes.com/general-characteristics-of-phylum-nemathelminthes/>

Dýchajú celým povrchom tela, mnohé dýchajú anaeróbne (kyslík získavajú rozkladom sacharidom z potravy – endoparazity). Nemajú cievnu sústavu. Nervová sústava je pásová gangliová, tvoria ju dva nervové uzly spojené okolo hltanovou obrúčkou, z nej vybiehajú pásy do celého tela. Rozmnožovacia sústava – sú to gonochoristy, charakteristický je pohlavný dimorfizmus (samice sú väčšie ako samce), vývin je nepriamy prostredníctvom larvy. Podľa miesta, kde parazitujú ich môžeme rozdeliť na črevné nematoda a tkanivové nematoda.

4.1 Laboratórna parazitárnych nákaz

Diagnostika parazitóz využíva podobné metódy priameho i nepriameho dôkazu pôvodcov ochorení ako je tomu pri mikrobiálnych infekciách.

Metódy priameho dôkazu sú zamerané na dôkaz parazitov alebo ich vývinových štádií vo vyšetrovanej vzorke, ktorou je najčastejšie stolica, moč, krv, spútum, duodenálna šťava, punkáty a vzorky tkanív. Na vyšetrenie sa používajú metódy:

1. Mikroskopické (svetelná mikroskopia s technikami fázového kontrastu, tmavého poľa, fluorescenčné techniky, elektrónmikroskopické techniky a pod.).
2. Kultivačné (črevné prvoky, trichomonády, voľne žijúce meňavky, larvy helmintov).
3. Metódy na dôkaz antigénov (imunofluorescenčné a imunoenzýmové techniky).
4. Molekulárno-biologické metódy dôkazu DNK alebo RNK parazita (PCR).

Metódy nepriameho dôkazu majú uplatnenie v diagnostike tkanivových parazitóz. Vykonávajú sa dôkazom špecifických protilátok IgG, IgM, IgA a IgE v sére a v telových tekutinách rôznymi metódami. (ELISA, aglutinačné metódy, techniky imunoblotu komplementu, hemaglutinačné testy a podobne. U nás sa najčastejšie vyvíjajú na diagnostiku toxoplazmózy, extraintestinálnej amebózy, larválnej

toxokarózy, echinokokózy, cysterkózy, trichinelózy. Vyšetrenie sérových protilátok môže aj u pacientov s preukázanou infekciou poskytovať mylné výsledky. Ide najmä o prípady, kedy helmint postihne oko alebo centrálny nervový systém. V takých prípadoch je potrebné vyšetriť okrem séra paralelne aj očné tekutinu, sklovec alebo mozgovomiešny mok s cieľom dokázať intratekálnu alebo intraokulárnu tvorbu protilátok. Diagnostika parazitóz, najmä tkanivových, musí byť komplexným procesom.

4.2 Liečba parazitárnych nákaz

Liečba parazitárnych nákaz je súčasne jednou z najúčinnějších foriem boja proti ich rozširovaniu. Jej úspešnosť závisí od správneho a včasného zistenia pôvodcu ochorenia, jeho orgánovej lokalizácie, voľby antiparazitika, dávky a spôsobu jeho aplikácie. Antiparazitárne lieky sa podľa spektra účinku delia na antiprotozoárne, ktoré pôsobia na prvoky a antihelmintické, pôsobiace na červy. Podľa zloženia ide o prírodné liečivá a chemoterapeutiká. Prírodné sú rastlinného pôvodu, väčšinou sú menej účinné a majú viac vedľajších účinkov. Špecifická liečba (imunizácia vakcínami pripravenými z tiel parazitov alebo liečba sérami zvierat infikovaných určitým parazitom) sa v parazitológii uplatňuje zriedkavo. V terapii niektorých protozoárnych nákaz sa osvedčuje aplikácia antibiotík (napr. spiramycín, klindamycín, doxycyklín). Na liečbu globálne rozšírených parazitóz, vyskytujúcich sa aj na Slovensku, sa používajú:

1. pri protozoózach

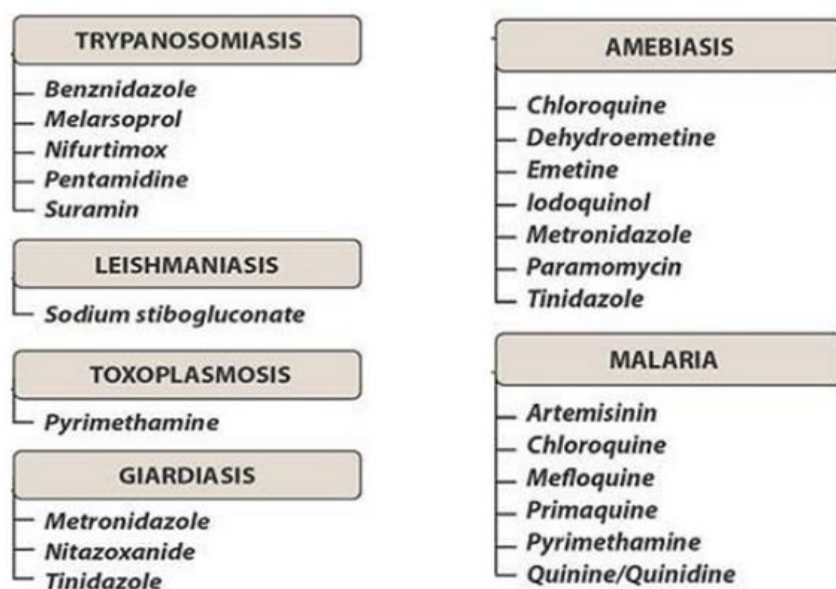
metronidazol

ornidazol

tinidazol – pri zlyhaní liečby metronidazolom alebo ornidazolom

pyrimetamin

spiramycín - pri toxoplazmóze (pri očnej forme je indikovaný klindamycín a kortikosteroidy).



Obr. 255. Liečivá na infekcie vyvolané prvokmi.

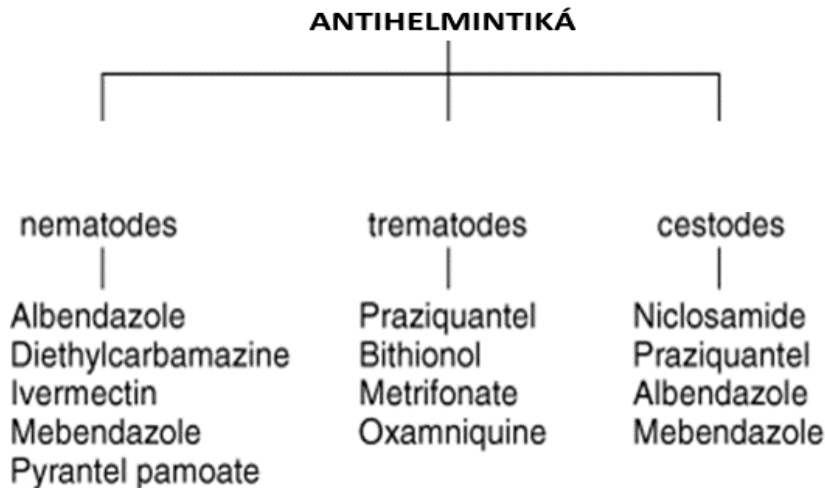
<https://www.slideshare.net/saminathankayarohanam/9antiprotozoal-drugs>

2. pri helmintózach

mebendazol

albendazol

Pri oboch uvedených antiparazitikách, ako aj pri dlhodobejšej liečbe protozóz je potrebné kontrolovať pečeňové enzýmy a krvný obraz.



Obr. 256. Antihelmintiká.

<https://accessphysiotherapy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=442§ionid=40184168>

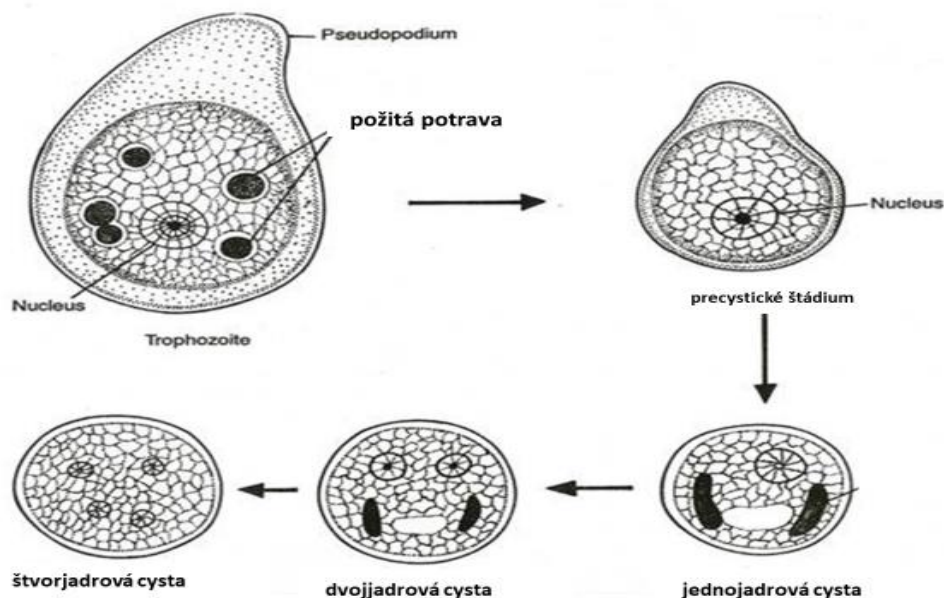
4.3 Medicínsky významné protozoa

4.3.1 Črevné protozoa

Entamoeba histolytica (améba)

Charakteristika

Entamoeba histolytica/dispar: ide o dva morfológicky identické druhy, ktoré boli pôvodne považované za jeden a ten istý druh (*E. histolytica* s formami minuta a magna). Odlišujú sa genetickými a biochemickými vlastnosťami. Patogénny kmeň a pôvodca amebózy alebo amébovej dyzentérie je *Entamoeba histolytica* a nepatogénny kmeň je *E. dispar*.



Obr. 257. *Entamoeba* proces vzniku cysty.

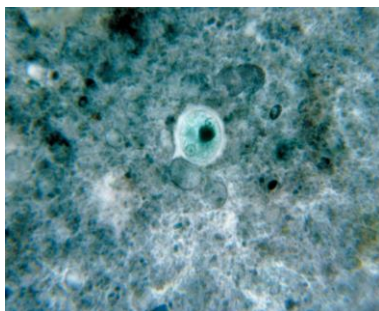
<http://www.yourarticlelibrary.com/zoology/parasite-entamoeba-histolytica-life-cycle-mode-of-infection-and-treatment/24274>

Patogénny potenciál

Parazit - trofozoit - žije v hrubom čreve, kde sa živí najmä baktériami. V hrubom čreve sa mení na odolnú štvorjadrovú cystu, ktorá sa vylučuje do prostredia. Faktory podmieňujúce encystáciu nie sú známe. Prenáša sa fekálno-orálnou cestou (trofozoitmi kontaminovanými potravinami a vodou). Invázna *E. histolytica* cytolýzou a enzymaticky poškodzuje črevné epitelové bunky a vytvára v sliznici hlboké vredy, zasahujúce do submukózy. Trofozoity (merajú 8-30 μm), nachádzané v čerstvej hnačkovitej stolici, sú veľmi pohyblivé, vytvárajú pseudopódie. V ich cytoplazme nachádzame erytrocyty, ktorými sa živia.

Ochorenia

E. histolytica spôsobuje **črevnú amebózu** - akútnu amébovú dyzentériu alebo chronickú amebózu. Nástup ochorenia je oveľa pomalší ako u bakteriálnej dyzentérie. Trofozoity sa množia, prenikajú do mukózy čreva a vyvolávajú lézie v céku a potom v rektosigmoidálnej oblasti. Lézie zasahujú až do submukózy a vytvárajú kráterovité vredy. Niekedy dôjde až k perforácii čreva a peritonitíde s následnou smrťou.



Obr. 258. *Entamoeba histolytica* – cysta.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cb/Entamoeba_histolytica_01.jpg

Laboratórna diagnostika a liečba

Je dôležité *mikroskopicky* vyšetrovať úplne čerstvú hnačkovitú stolicu, v ktorej sa nachádzajú živo sa pohybujúce trofozoity améb. V chronickej fáze ochorenia nachádzame v stolici cysty, vyšetrenie stolice je potrebné opakovať aspoň 3- krát za sebou. **Sérologické testy (ELISA)** potvrdia diagnózu dôkazom protilátok. Liekom voľby symptomatickej amebózy je metronidazol.

Kazuistika

Zibaei a kol. opísali v roku 2012 prípad štvormesačného dieťaťa z Iránu, ktoré bolo prijaté do nemocnice, vracalo, malo hnačku, distenziu brucha. Matka mala tiež bolesti brucha, hnačku a vracala. Priamym vyšetrením čerstvej stolice spracovanej koncentračnou metódou sa zistila prítomnosť cyst a trofozoitov *E. histolytica*, boli prítomné aj erytrocyty. Dieťa bolo liečené metronidazolom, bola indikovaná rehydratácia.

Aký je životný cyklus améb?

Aké komplikácie môžu vyvolať améby?

Aká laboratórne metódy sa používajú na identifikáciu amébovej infekcie?

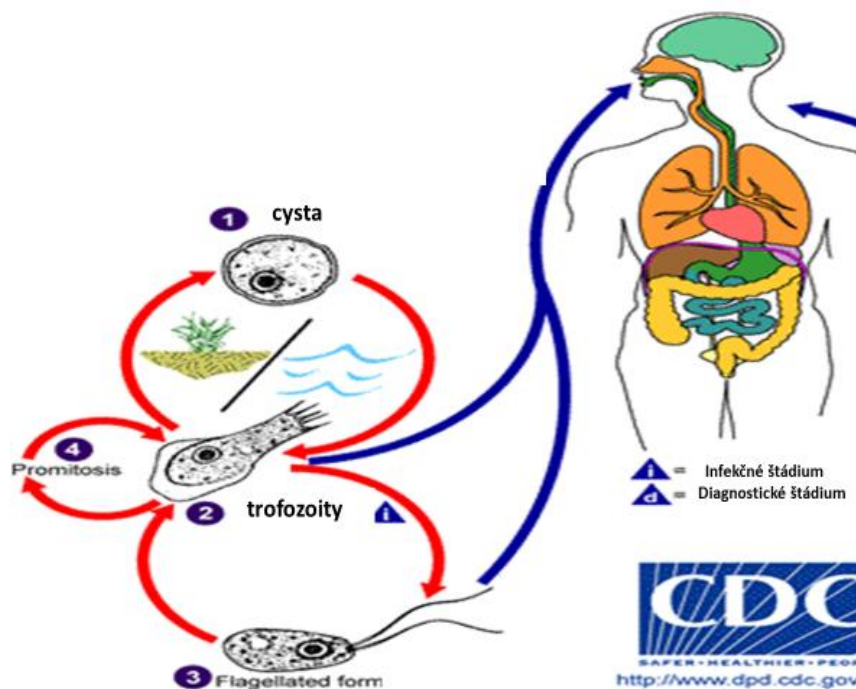
Naegleria fowleri (voľne žijúce améby)

Charakteristika

Patrí medzi voľne žijúce termotolerantné meňavky. Vyskytuje sa kozmopolitne najmä v sladkovodnom prostredí s termálnou alebo ohrievanou vodou (teplé pramene, plavecké bazény s vyhrievanou vodou, jazerá a vodné toky v teplých mesiacoch). Je pôvodcom ťažkého ochorenia centrálneho nervového systému - primárnej amébovej meningoencefalitídy (PAME).

Patogénny potenciál

Zatiaľ sa nepodarilo vysvetliť, prečo len niektoré druhy voľne žijúcich améb sú schopné prenikať priamo z prínosových sínusov do mozgu. Vstupnou bránou infekcie pri kúpaní a ponáraní je sliznica nosnej dutiny a améby prenikajú pozdĺž čuchového nervu až do mozgu.



Obr. 259. *Naegleria fowleri*.

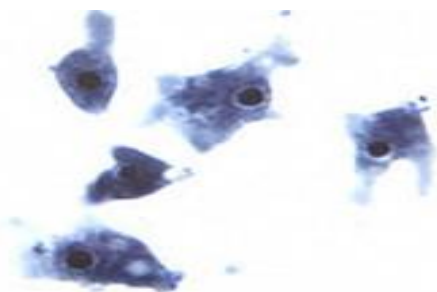
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Naegleria_%28formes%29.png

Ochorenia

Primárna amébová meningoencefalitída je náhle, prudké a ťažko diagnostikovateľné ochorenie centrálného nervového systému, prejavujúce sa ako akútna hnisavá meningoencefalitída, ktorá nereaguje na bežnú antibiotickú liečbu. Fulminantný priebeh ochorenia spolu s náročnou, často nesprávnym smerom vedenou diagnostikou poskytujú málo času pre terapiu, preto väčšina prípadov končí fatálne.

Laboratórna diagnostika a liečba

Pri podozrení na PAME (symptómy + anamnéza) sú základnými diagnostickými nástrojmi priame mikroskopické pozorovanie čerstvo odobratého, nechladeného mozgovomiechového moku a dôkaz prítomnosti *N. fowleri* vo vzorkách mozgovomiechového moku kultiváciou. Liekom voľby je amfotericin B vo vysokých dávkach, v kombinácii s rifampicínom a doxycyklinom.



Obr. 260. *Naegleria fowleri*.

https://cs.wikipedia.org/wiki/Naegleria_fowleri

Kazuistika

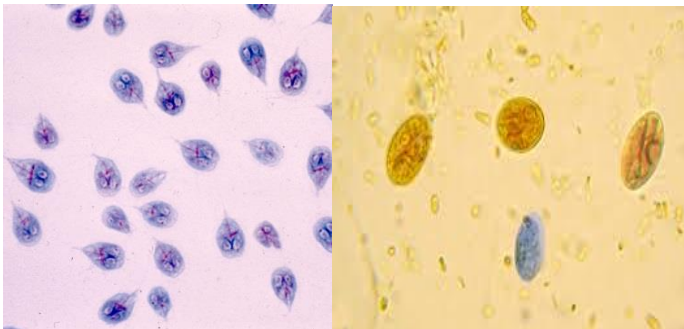
26-ročný muž bol privezený do nemocnice pre náhle vzniknuté kŕče celého tela a vysokú horúčku, pri prijatí bol v komatóznom stave, mal stuhnutú šiju. Vyšetrenie likvoru bolo negatívne, mikroskopicky ani kultivačne neboli zistené žiadne mikroorganizmy. Bola stanovená diagnóza meningoencefalitídy, pacienta liečili ceftriaxonom, stav sa však stále zhoršoval. Boli odobraté ďalšie vzorky likvoru, stále z negatívnym výsledkom. O 5 dní neskôr bolo indikované ďalšie vyšetrenie likvoru, ktoré odhalilo prítomnosť pohyblivých mikroorganizmov, bola indikovaná liečba amfotericínom. Pacient po 24 hodinách zomrel.

Aký mikroorganizmus vyvolal ochorenie?
Ako sa pacient mohol nakaziť?

Giardia lamblia (flagellata)

Charakteristika

Giardia je črevný patogén. Má dve štádiá, trofozoit a cystu. Trofozoit má hruškovité telo, prísavku, všetky organely zdvojené a 8 bičikov. Tvorí cysty, ktoré sú oválne a vychádzajú stolicou von z tela.



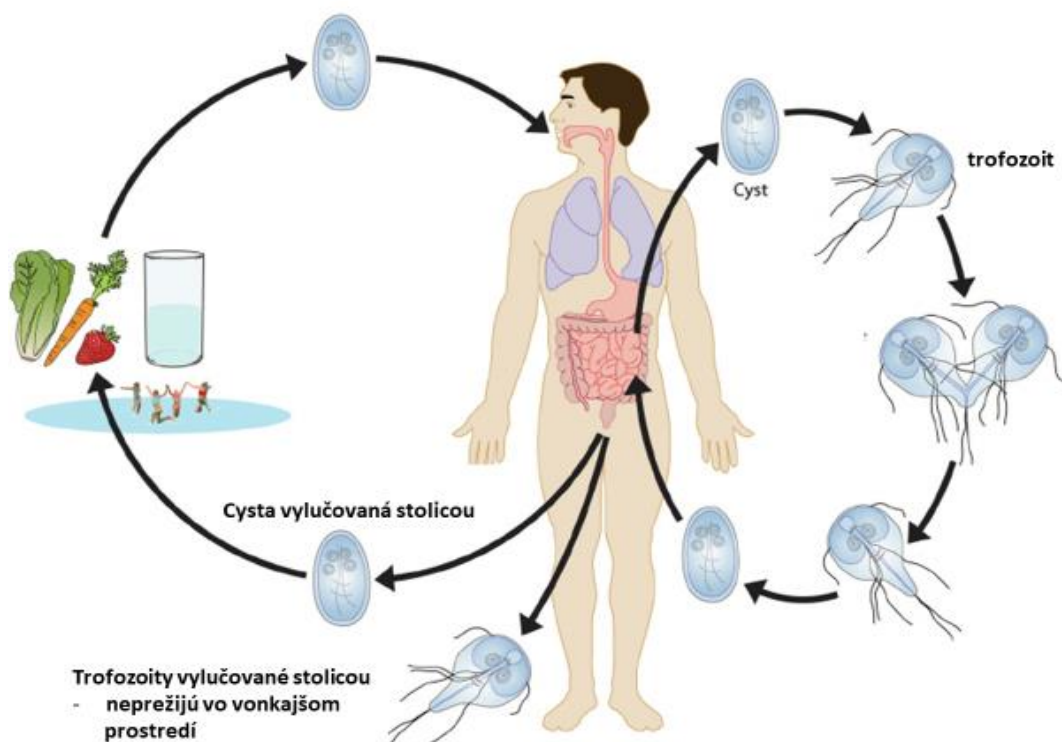
Obr. 261. *Giardia lamblia* – torfozoity (vľavo), vysty (vpravo).

Patogénny potenciál

Giardie sa vyskytujú celosvetovo, prenášajú sa prostredníctvom kontaminovanej vody a potravy, cysty sú rezistentné voči chlóru. Infekčná dávka je asi 10-15 cyst, kyslé prostredie žalúdka stimuluje excystáciu. Giardie sú prisaté prísavkou na epitelových bunkách duodena a jejuna v obrovskom množstve. Neprenikajú do submukózy. Dodnes nie je dobre známy mechanizmus patogénneho pôsobenia giardie. Dáva sa do vzťahu s porušenou absorpciou tukov a v tukoch rozpustných vitamínov. V stolici nachádzame nadbytok tukov (steatorrhea). Pri masívnej nákaze prenikajú giardie do žľových ciest a retrográdne do žľníka a manifestujú sa ochorením žľníka a zápalom žľových ciest.

Ochorenia

Ochorenie sa nazýva giardióza, vyskytuje sa predovšetkým v oblastiach s nízkym hygienickým štandardom a vysokou hustotou obyvateľstva. Väčšina infekcií prebieha asymptomaticky. **Akútne štádium** giardiózy sa prejavuje náhlými hnačkami, nechutenstvom, nevoľnosťou, bolesťami brucha a zvýšenou plynatosťou. U **chronických** infekcií môžu opakované symptómy viesť až k malabsorbčnému syndrómu, nedostatku vitamínov, váhovej strate a mentálnej retardácii.



Obr. 262. *Giardia lamblia* – cesta prenosu.

https://www.researchgate.net/figure/Giardia-sp-life-cycle-Giardia-cysts-shed-in-the-feces-are-infectious-Infection-occurs_fig4_234087025

Laboratórna diagnostika a liečba

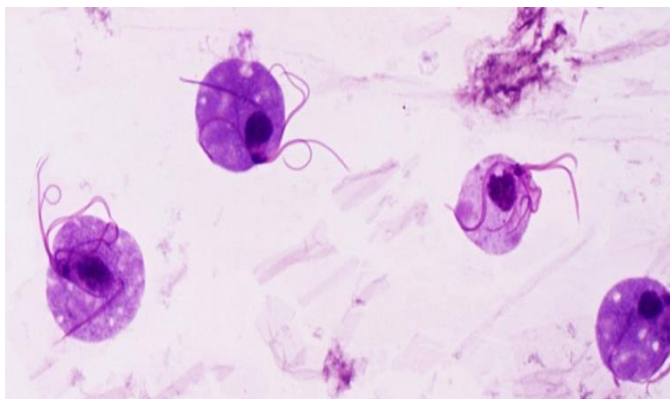
Laboratórna diagnostika giardiózy sa opiera o priamy mikroskopický dôkaz parazita. Trofozoity hľadáme v natívnom preparáte z čerstvej vzorky stolice (trofozoity je možné zachytiť len v hnačkovej stolici vďaka rýchlej pasáži črevného obsahu črevom) alebo v duodenálnej tekutine. Vo formovaných stolicách nachádzame obvyčajne len oválne cysty. Na dôkaz cýst giardií sa používajú rôzne koncentračné metódy flotačného alebo sedimentačného typu. V súčasnosti sú k dispozícii rôzne komerčné súpravy na detekciu antigénu *Giardia intestinalis* v stolici, ktoré sa vyznačujú vysokou citlivosťou a špecifickosťou. Ide o testy ELISA, imuno fluorescenčné a imunochromatografické testy s využitím monoklonálnych protilátok. Význam majú i metódy PCR na priamy dôkaz DNA parazita. Liekom voľby giardiózy je metronidazol (Entizol).

4.3.2 Urogenitálne protozoa

Trichomonas vaginalis (flagellata)

Charakteristika

Má hruškovitý tvar tela a štyri bičíky na prednom konci a ďalší bičík orientovaný smerom dozadu, ktorý tvorí lem undulujúcej (vlniacej sa) membrány, vďaka ktorej je pohyb charakteristický, trhavý a pripomína otáčanie sa ozubeného kolesa. Parazit je citlivý na podmienky vonkajšieho prostredia. Najčastejšie sa vyskytuje v pošve.



Obr. 263. *Trichomonas vaginalis*.

Patogénny potenciál

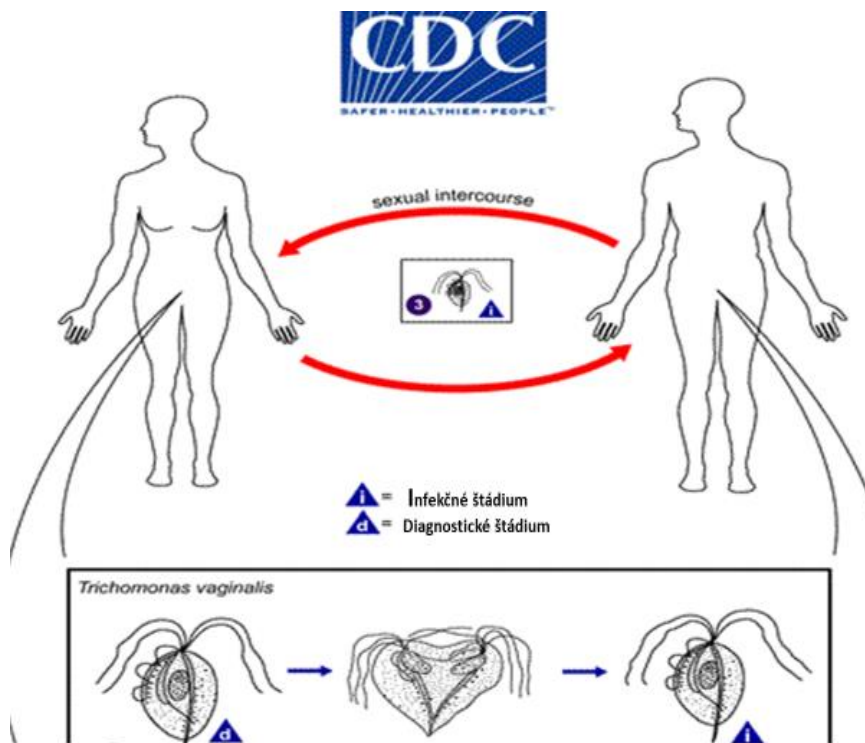
Trichomonády mechanicky poškodzujú bunky sliznice pošvy jednak tým, že sa uchytia prostredníctvom svojich výbežkov na ne a jednak vylučovaním enzýmov, ktorými degradujú ich povrch.

Ochorenia

Trichomonóza je infekčné ochorenie pohlavných orgánov, ktoré sa prenáša pohlavným stykom a vedie k zápalu slizníc močových a pohlavných orgánov. Prítomnosť trichomonózy zvyšuje riziko nákazy inými sexuálne prenosnými chorobami (infekcia HIV/AIDS, kvasinkový zápal pošvy). V prípade neliečenej infekcie tehotných žien dochádza k predčasnému pôrodu a dieťa má nízku pôrodnú hmotnosť.

Laboratórna diagnostika a liečba

Dôkaz prítomnosti *Trichomonas vaginalis* sa vykonáva mikroskopicky a kultivačne. V natívnom preparáte sú pri akútnej trichomonóze prítomné pohyblivé trichomonády. Pri chronických infekciách bývajú spoľahlivejšie kultivačné metódy a následná mikroskopia. V liečbe sú účinné imidazolové preparáty (metronidazol, ornidazol) podávané lokálne aj celkovo.



Obr. 264. *Trichomonas vaginalis* – cesta prenosu.

<https://emedicine.medscape.com/article/230617-overview>

Kazuistika

32-ročný muž, infikovaný HIV bol prijatý do nemocnice, udával únik moču a hnisanie z uretry. Pri vyšetrení boli zistené hnisajúce lézie na penise a niekoľko drénujúcich sínusov. Vyšetrenie hnisu bolo pozitívne, identifikovali prítomnosť *Trichomonas vaginalis*.

Aké vyšetrovacie metódy sa používajú na diagnostiku *Trichomonas vaginalis*?

Ako sa prenáša táto infekcia?

Aké sú možnosti liečby a prevencie infekcií vyvolaných *Trichomonas vaginalis*?

4.3.3 Krvné a tkanivé protozoa

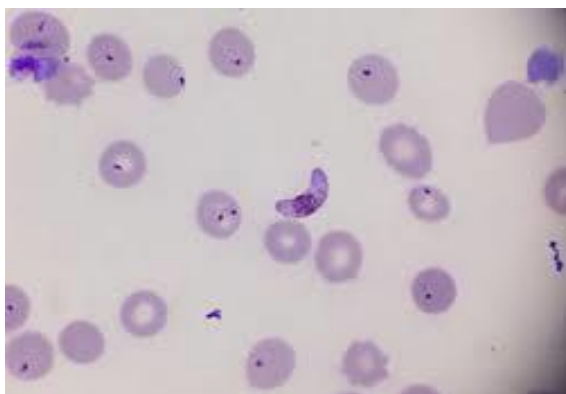
Plasmodium (sporozoa)

Plasmodium vivax – benígna trojdenná (vivax) malária tertiana

Plasmodium ovale – benígna trojdenná (ovale) malária tertiana

Plasmodium malariae – benígna štvordenná malária quartana

Plasmodium falciparum – malígna trojdenná tropická malária subtertiana



Obr. 265. *Plasmodium falciparum* – gametocyty, krvný náter.

https://www.shutterstock.com/cs/search/plasmodium+falciparum?sort=popular&image_type=photo&safe=true

Charakteristika

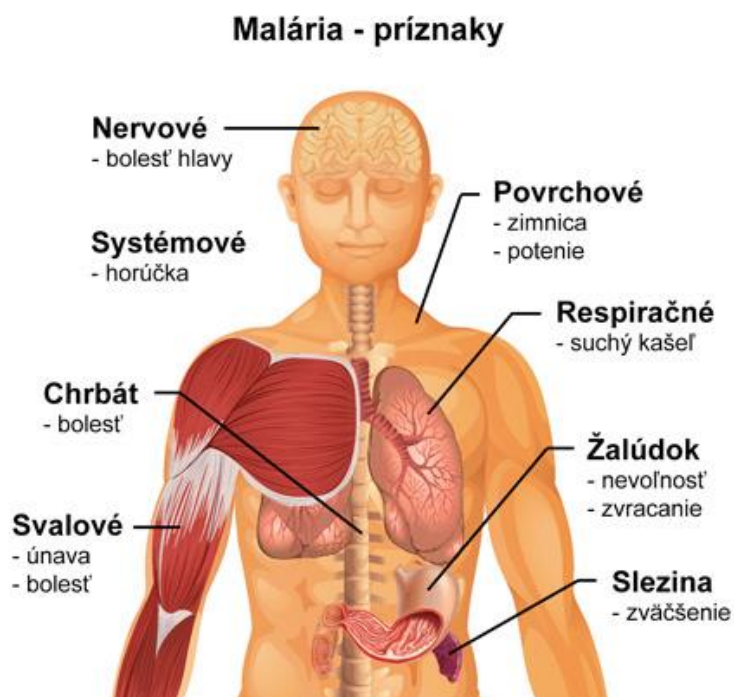
Definitívnym hostiteľom plazmódií sú samičky komárov (*Anopheles*). V nich prebieha pohlavné rozmnožovanie plazmódií, tzv. **sporogónia**. Samička sa infikuje pri cicaní samčiami a samičkami mikrogametocytami a makrogametocytami, ktoré kolujú v periférnej krvi nakazeného človeka. V zažívacom trakte samičky anofela sa gametocyty spoja a vytvoria **zygótu** až **oocystu**, ktorá sa rozpadá na množstvo **sporozoítov**, ktoré sa presídli do slinných žliaz komára. Pri najbližšom napadnutí človeka sporozoity prenikajú so slinami komára do krvi a tá ich zanáša až do pečene. V bunkách pečenevého parenchýmu sa rozmnožujú nepohlavne, tzv. **schizogóniou**, a vytvárajú **merozoity**. Tento cyklus sa volá *preerytrocytárny* alebo *extraerytrocytárny* cyklus. Merozoity napádajú ďalšie a ďalšie pečenevé bunky a je to tzv. *sekundárny exoerytrocytárny cyklus* alebo tkanivová fáza. Potom niektoré merozoity namiesto pečenevých buniek začnú napádať erytrocyty. Merozoity sa v krvinke rozmnožia schizogóniou a po rozpade erytrocytu napádajú ďalšie erytrocyty. Nie všetky parazity v erytrocytoch prechádzajú schizogóniou. Niektoré z nich sa diferencujú ako samčie a samičie **pohlavné mikrogametocyty a makrogametocyty**. To sú štádiá, ktoré sú schopné pokračovať vo vývojovom cykle v žalúdku cicajúceho komára.

Patogénny potenciál

Patologické zmeny v parenchýmových bunkách pečene po invázii exoerytrocytárnych plazmódií sú minimálne. Pri biopsii pečene vidíme menšie bunky obsahujúce merozoity. Rezervoárom parazitov sa stáva pečeň a plazmódiá môžu napadnúť erytrocyty neskôr. Preto, aj keď sa liečením zničia parazity v erytrocytoch, môže neskôr ochorenie opäť vzplanúť. Tento stav nazývame **relaps**, je možný u infekcii všetkými typmi plazmódií okrem *P. falciparum*. Jedine u tohto plazmódia pravdepodobne všetky merozoity prenikajú priamo do červených krviniek a zatiaľ nepoznáme sekundárny exoerytrocytárny cyklus. Väčšie patologické zmeny pri všetkých malarických infekciách sú spojené s erytrocytárnou fázou nákazy – deštrukciou červených krviniek (anémia, zväčšená slezina, pečeň, petechiálne krvácanie, malarické granulómy v mozgu).

Ochorenia

Po nakazení človeka vzniká prepatentné štádium, keď sa parazity množia v pečeni. Až keď merozoity uvoľnené z parenchýmu pečene a prenikajúce do erytrocytov, v ktorých sa množia, sa pri prasknutí erytrocytov uvoľnia do krvného obehu, vzniká prvý malarický záchvat. Frekvencia a priebeh záchvatov závisí od druhu plazmódia. **Malária terciana** je charakteristická horúčkami opakujúcimi sa každý tretí deň, **malária quartana** každý štvrtý deň, u **tropickej malárie** (*P. falciparum*) sú horúčky každý deň. Klasický malarický záchvat má tri fázy: zimnica – horúčka – potenie. Zimnica trvá 15 minút až 2 hodiny, prechádza do horúčky, ktorá vzniká uvoľnením toxických látok pri schizogónii. Dosahuje 39 – 41 °C a dôjde ku tachykardii. U terciány trvá horúčka 3 – 8 hodín, u kvartány 4 – 5 hodín, u tropickej skoro nepretržite 20 – 24 hodín a je sprevádzaná delíriom. Horúčkový záchvat je ukončený silným potením a teplota klesá pod 37 °C.



Obr. 266. Malária – príznaky.

<http://www.zdravie.sk/choroba/27007/malaria>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika malárie sa opiera o dôkaz a určenie parazita v hrubej kvapke a v krvnom nátere. Vzorky zvyčajne odoberáme v priebehu záchvatu. Na úspešnú diagnostiku je potrebné prezrieť aj niekoľko desiatok preparátov infikovanej krvi. Podľa chemického zloženia rozlišujeme 6 skupín antimalariík: chinín, 6-aminocholíny, 8-aminocholíny, 9-aminoakridíny, pyrimetamín a biguanidy. Na dosiahnutie širšieho spektra účinku sa používajú kombinované preparáty.

Kazuistika

44-ročný muž často cestoval do Pakistanu, posledná návšteva bola pred dvomi mesiacmi. Profylaxiu proti malárii neužíval. Pacientovi bola pred piatimi týždňami diagnostikovaná malária, bol aj liečený, stav sa upravil. Teraz má pacient horúčku, ktorá trvá niekoľko dní, žiadne iné príznaky neudáva. Vyšetrením krvného náteru sa zistila prítomnosť parazitov a útvarov vo forme pečatného prsteňa. Infikované erytrocyty boli zväčšené a deformované.

O aké ochorenie pravdepodobne ide u tohto pacienta?
Aké formy malárie poznáte?
Aká je laboratórna diagnostika malárie?

Toxoplasma gondii (sporozoa)

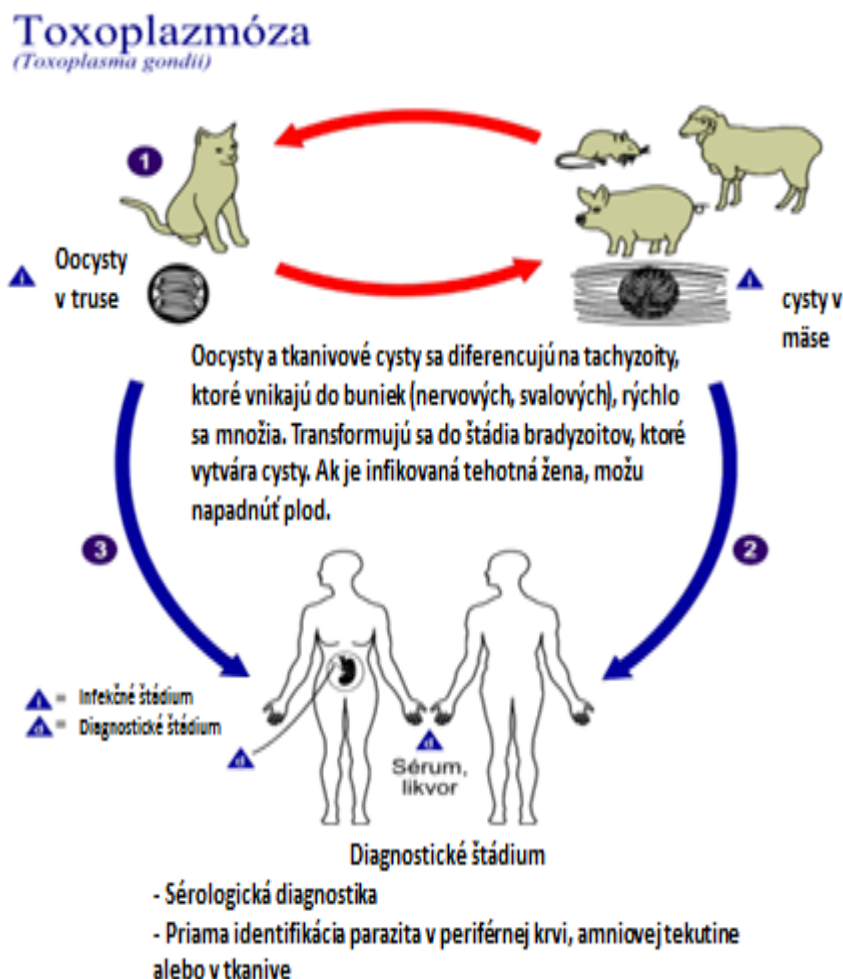
Charakteristika

Definitívnym hostiteľom je mačka. V jej črevnej sliznici prebieha pohlavné rozmnožovanie parazita, ktorého výsledkom sú **oocysty**, vylučované s výkalmi mačky. Nakazená mačka vylučuje oocysty 7 – 20 dní. V každej z nich sa tvoria dve sporocysty, pričom každá obsahuje 4 sporozoity. Človek sa nakazí prehltnutím zrelej oocysty, ktorá kontaminovala zeleninu, ovocie, ruky pri práci v záhrade, či pri hre detí na pieskoviskách. Podobne ako človek sa nakazia teplokrvné zvieratá a vtáci (medzihostitelia).

Patogénny potenciál

V gastrointestinálnom trakte človeka aj v iných medzihostiteľoch sa z oocýst uvoľňujú sporozoity, krvou sú zanášané do rôznych orgánov a tkanív nakazeného jedinca, kde sa

nepohlavne množia ako intracelulárne parazity nazývané tachyzoity. Pri latentnej nákaze sa v tkanive tvoria toxoplazmové cysty, v ktorých sú desiatky až stovky bradyzoitov. Cysty majú afinitu k nervovému tkanivu a priečnym svalom, ale nachádzajú sa aj v očnej sietnici. Cysta je definitívnym štádiom vývoja parazita (5 – 60 µm). *Toxoplasma gondii*, parazituje na rôznych teplokrvných živočíchoch vrátane človeka. Jeho definitívnym hostiteľom je mačka alebo iné mačkovité šelmy.



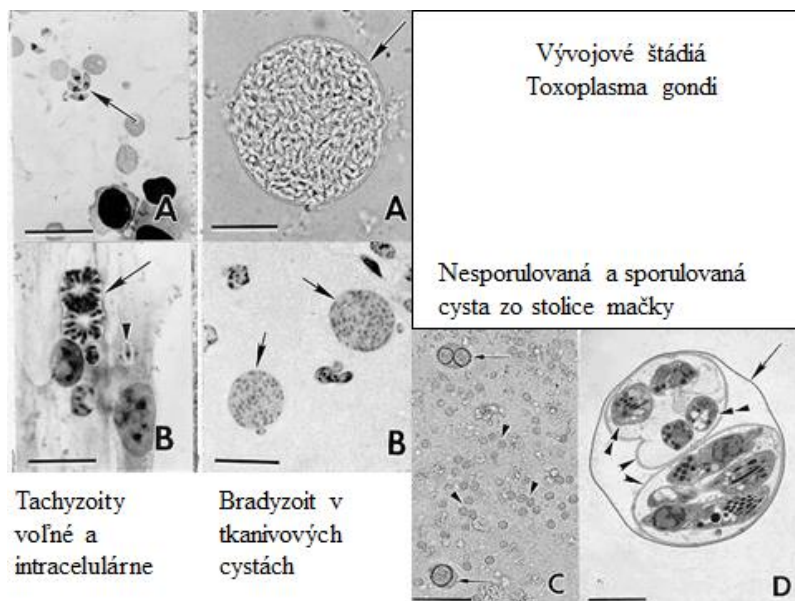
Obr. 267. *T. gondii* – životný cyklus.

<http://www.genetika-biologie.cz/teratogeny>

Ochorenia

Rozoznávame toxoplazmózu vrodenú (kongenitálnu) a získanú (akvirovanú). Kongenitálna toxoplazmóza vzniká diaplacentárnym prechodom parazita z matky, najčastejšie po primárnej nákaze v tehotnosti, na plod. Prejaví sa akútne, keď plod odumrie a matka ho potratí, alebo sa prejaví počas pôrodu alebo až po ňom. **Kongenitálna nákaza** má viac foriem: viscerálna (vzácná), cerebrálna (encefalomyelitída, hydrocefalus), očná (chorioretinitída). Klinicky sa vyskytuje **získaná toxoplazmóza** ako generalizovaná (malígna - pri AIDS), lymfoglandulárna, očná (subakútna toxoplazmóza) forma. U zdravých imunokompetentných osôb prebieha

toxoplazmová infekcia väčšinou asymptomaticky. Z klinických príznakov je najsignifikantnejšia lymfadenopatia. Ako oportúnna infekcia však toxoplazmóza predstavuje potenciálne riziko vzniku vážnych porúch končiacich často fatálne u pacientov s imunitnou nedostatočnosťou, napr. AIDS, malignity a plodu.



Obr. 268. Vývojové štádiá *T. gondii*.

Laboratórna diagnostika a liečba

Laboratórna diagnostika toxoplazmózy sa opiera predovšetkým o dôkaz špecifických protilátok v sére, resp. v iných telových tekutinách suspektných osôb. Diagnostika toxoplazmózy je založená na kombinácii **základných testov (dôkaz celkových protilátok metódou RVK, špecifických protilátok IgM a IgG testom ELISA)** a **testov doplňujúcich (stanovenie avidity IgG protilátok, dôkaz IgA protilátok, metódy Western-blotu, sledovanie dynamiky protilátkovej tvorby)**. Protilátky triedy IgM sú dôležitým markerom akútneho štádia toxoplazmózy, ktoré sú detekovateľné vo vysokých titroch práve na začiatku ochorenia. Objavujú sa už na 3. - 5. deň po infekcii a obyčajne vymiznú do 9 mesiacov. U niektorých pacientov sa však stretávame s dlhodobým pretrvávaním vysokých hodnôt IgM. Protilátky triedy IgA, podobne ako IgM protilátky sa považujú tiež za marker včasnej akútnej infekcie. Protilátky triedy IgG sa v priebehu akútnej fázy infekcie syntetizujú posledné z jednotlivých tried imunoglobulínov a vrchol dosahujú po pol roku od zistenia klinických príznakov. Počas niekoľkých mesiacov pretrvávajú vo vysokých hladinách, potom postupne klesajú a v stredných až nízkych hladinách perzistujú počas celého života hostiteľa. Prítomnosť vysokých hladín IgG protilátok ešte nemusí jednoznačne stanoviť diagnózu, avšak sérokonverzia alebo štvornásobný nárast hladín špecifických IgG protilátok akútnu infekciu potvrdzuje. Ak nie je interpretácia jednoznačná možno použiť konfirmačné testy na zistenie štádia toxoplazmovej infekcie pomocou stanovenia avidity IgG protilátok. Test avidity je založený na meraní sily väzby špecifických IgG protilátok k multivalentnému toxoplazmovému antigénu. Táto sila väzby je na začiatku infekcie slabšia (detekcia nízko-avidných protilátok), v priebehu tvorby imunitnej odpovede avidita protilátok narastá. Špecifické hladiny anti-toxoplazmových protilátok možno

dokázať aj v likvore alebo komorovom moku, ale na posúdenie aktivity neuroinfekcie alebo infekcie oka je potrebné rozlíšiť, či ide o protilátky z plazmy (prienik alebo aktívny transport) alebo ide o syntézu protilátok spôsobenú poruchou hematoencefalickej bariéry. Na určenie pôvodu týchto protilátok je potrebné stanoviť protilátkový index (AI). Metóda je založená na porovnaní koncentrácií špecifických a celkových IgG v likvore (resp. v očnom moku) a v sére. Nepoznáme liek, ktorý by bol schopný eliminovať toxoplazmy z organizmu človeka. Najúčinnnejším je pyrimethamin, ktorý podávame až osem týždňov. Úspešne sa kombinuje so sulfonamidmi a spiramycínom.

Trypanosoma (flagellata)

Trypanosoma cruzi - americká trypanozomóza (Chagasovu choroba)

Trypanosoma brucei gambiense - západoafrická (gambijská) spavá choroba

Trypanosoma brucei rhodesiense - východoafrická (rodézska) spavá choroba

Charakteristika

Vektorom prenosu *T. cruzi* sú rôzne druhy ploštíc rodu *Triatoma* a *Rhodnius*. Domáce aj divé zvieratá sú rezervoárom. Vektorom prenosu *T. gambiense* je mucha *Glossina palpalis* (Tse-tse) a vektorom *T. rhodesiense* je *Glossina morsitans*. Rezervoárom je infikovaný človek. V infikovaných plošticiach sa trypanozómy menia cez amastigotné formy na epimastigotné a neskôr na metacyklické formy. Ploštice pri cicaní defekujú a kladú trypanozómy s výkalmi na kožu alebo mukózne membrány. Tieto trypanozómy (metacyklické) aktívne prenikajú cez neporušenú kožu. Invadované trypanozómy voľne cirkulujú v krvi ako bičíkaté formy, alebo sa dostávajú do hostiteľských buniek, kde sa menia na amastigotné formy. Množia sa delením a deštrujú bunky retikuloendotelového systému a najmä srdcového svalu.



Obr. 269. *Trypanosoma cruzi*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Trypanosoma_cruzi_crithidia.jpeg

Patogénny potenciál

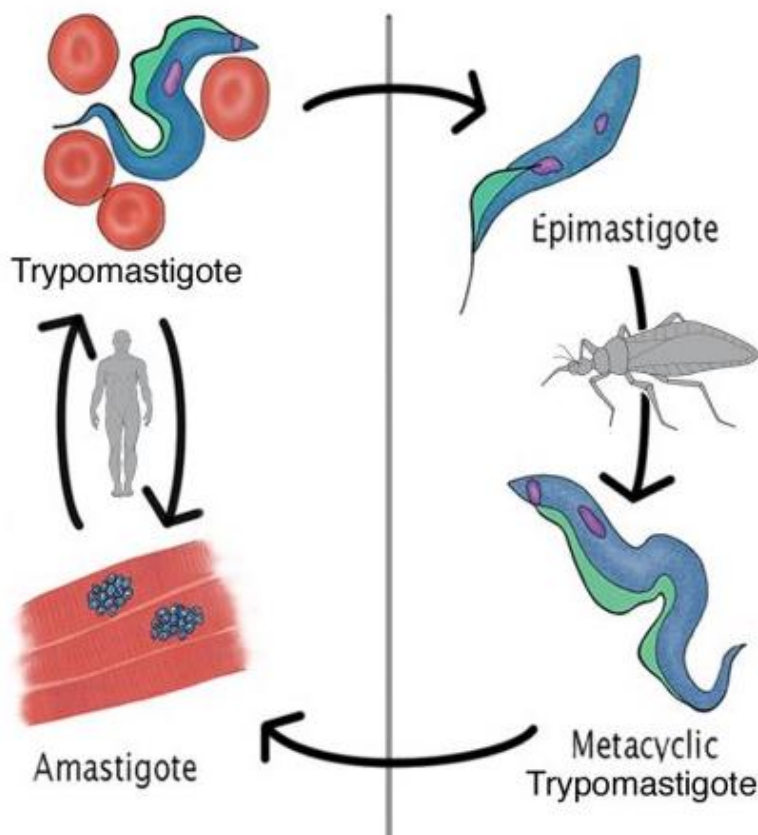
V infikovaných plošticiach sa trypanozómy menia cez amastigotné formy na epimastigotné a neskôr na metacyklické formy. Ploštice pri cicaní defekujú a kladú trypanozómy s výkalmi na kožu alebo mukózne membrány. Tieto trypanozómy

(metacyklické) aktívne prenikajú cez neporušenú kožu. Invadované trypanozómy voľne cirkulujú v krvi ako bičíkaté formy, alebo sa dostávajú do hostiteľských buniek, kde sa menia na amastigotné formy. Množia sa delením a deštruujú bunky retikuloendotelového systému a najmä srdcového svalu.

Trypanozómy v Glossine sa množia 20 – 30 dní a tvoria najprv epimastigotné a neskôr infekčné metacyklické trypanozómy. Tieto sa pri vpichu so slinami muchy dostávajú do krvného obehu alebo likvoru človeka, kde sa voľne pohybujú tri typy bičíkatých - trypanozómových foriem. Po čase invadujú do buniek, strácajú bičík a menia sa na amastigotnú formu, ktorá parazituje intracelulárne.

Ochorenia

Amastigotné formy *T. cruzi* sa množia najmä v srdcovom svale, vzniká fibróza myokardu. Deštruujú aj hladké svaly vnútorných orgánov. V mozgu vznikajú nodulárne ložiská, ktoré zapríčínajú meningoencefalitidu. Vtedy možno dokázať trypanozómy v likvore. *T. cruzi* spôsobuje akútnu a chronickú formu **Chagasovej choroby**. **Akútne štádium** (u detí) je charakterizované (v mieste vpichu) reakciou – tzv. „chagóm“ (trypanozomový „chancr“). Je to 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. Niekedy dochádza k fatálnemu koncu už za niekoľko dní. **Chronické štádium** sa vyskytuje u dospelých. Chýba chagóm, pacient má subfebrílie, môže trpieť kardiálnymi, žalúdočnými a neurologickými ťažkosťami.



Obr. 270. Chagasova choroba – schéma prenosu.

<https://www.chagasfound.org/chagas-disease/life-cycle/>

Východoafrická a západoafrická spavá choroba sa od seba líšia nielen miestom výskytu ale aj charakterom ochorenia. **Západoafrický (gambijský) typ** sa manifestuje včas. O necelý týždeň po infekčnom vpichu muchou tse-tse sa vytvorí mäkký erytematózny uzlík „chancr“, z ktorého vznikne vred, prítomná je lymfadenopatia obojstranne na zadnej strane krku – tzv. Winterbottomov syndróm. Po mesiacoch sa objavuje letargia, apatia, pretrvávajúce bolesti hlavy, manifestujú sa príznaky postihnutia CNS, až komatózny stav. **Východoafrický (rodézsky) typ** spavej choroby má naopak krátky inkubačný čas a oveľa rýchlejší priebeh ochorenia. Horúčky, triaška sú intenzívne, poškodenie CNS nastáva skôr (do 1 mesiaca) ako pri gambijskom type. Neliečený pacient zomiera na poruchu činnosti srdca skôr, ako sa stihnú manifestovať príznaky poškodenia CNS.

Laboratórna diagnostika a liečba

Mikroskopická diagnostika spavej choroby sa opiera o nález trypanozóm v periférnej krvi, likvore, biopsie lymfatických uzlín. Diagnóza u Chagasovej choroby sa robí na základe klinických prejavov Romaňovho symptómu a nálezu trypanozóm v zoškraboch zo chagómu. Priamy dôkaz z krvi sa darí len v akútnom štádiu. Nepriamym dôkazom sú sérologické metódy. Účinný liek proti Chagasovej chorobe nepoznáme. Zatiaľ najlepšie výsledky pri akútnej nákaze majú deriváty nitrofuránov podávané počas 90 - 120 dní, a to pri akútnej aj chronickej forme. Účinným liekom v prvom štádiu spavej choroby je derivát močoviny. Hrozí poškodenie obličiek. Veľmi dobrý liečebný účinok má pentamidín. Ak je poškodený CNS, liekom voľby je melarsoprol.

Kazuistika

Novorodenec, dievča, narodené v 40. týždni tehotenstva malo hepatosplenomegáliu, petéchie a početné hemorágie. Bola iniciovaná liečba antibiotikami pre podozrenie na bakteriálnu sepsu. Na 19. deň sa stav dieťaťa zhoršil, bolo prítomné renálne zlyhanie, hypertenzia, lézie na sietnici, kŕče. Kultivačné vyšetrenia krvi a likvoru v priebehu 19 dní hospitalizácie boli negatívne. Opakovaným vyšetrením krvi sa zistila prítomnosť parazitov, ktoré vyvolávajú Chagasovu chorobu. Po liečbe benzonidazolom sa stav upravil.

Ako sa prenáša Chagasova choroba?
Aké ochorenia vyvolávajú trypanozómy?

Leishmania (flagellata)

Z rodu *Leishmania* sú pre človeka patogénne:

Leishmania tropica - vyvoláva kožnú leishmaniózu, tzv. suchý vred

Leishmania major - vyvoláva tzv. vlhký vred

Leishmania braziliensis a *Leishmania mexicana* - sú pôvodcami kožno-slizničnej (mukokutánnej) leishmaniózy.

Leishmania donovani, *Leishmania infantum* a *Leishmania chagasi* - sú pôvodcami viscerálnej (orgánovej) leishmaniózy – Kala azar.



Obr. 271. *Leishmania tropica* – promastigoty.

<https://www.msu.edu/course/zol/316/lspscope.htm>

Charakteristika

Prirodzeným rezervoárom leishmanióz sú pes, mačka, kôň, ovca, hlodavce. Ochorenie sa prenáša prostredníctvom vektora (*Phlebotomus*), u ľudí s léziami kože je možný aj priamy prenos kontaktom, slinami, sekrétom z nosa, stolicou (pri viscerálnej forme) aj autoinfekciou.

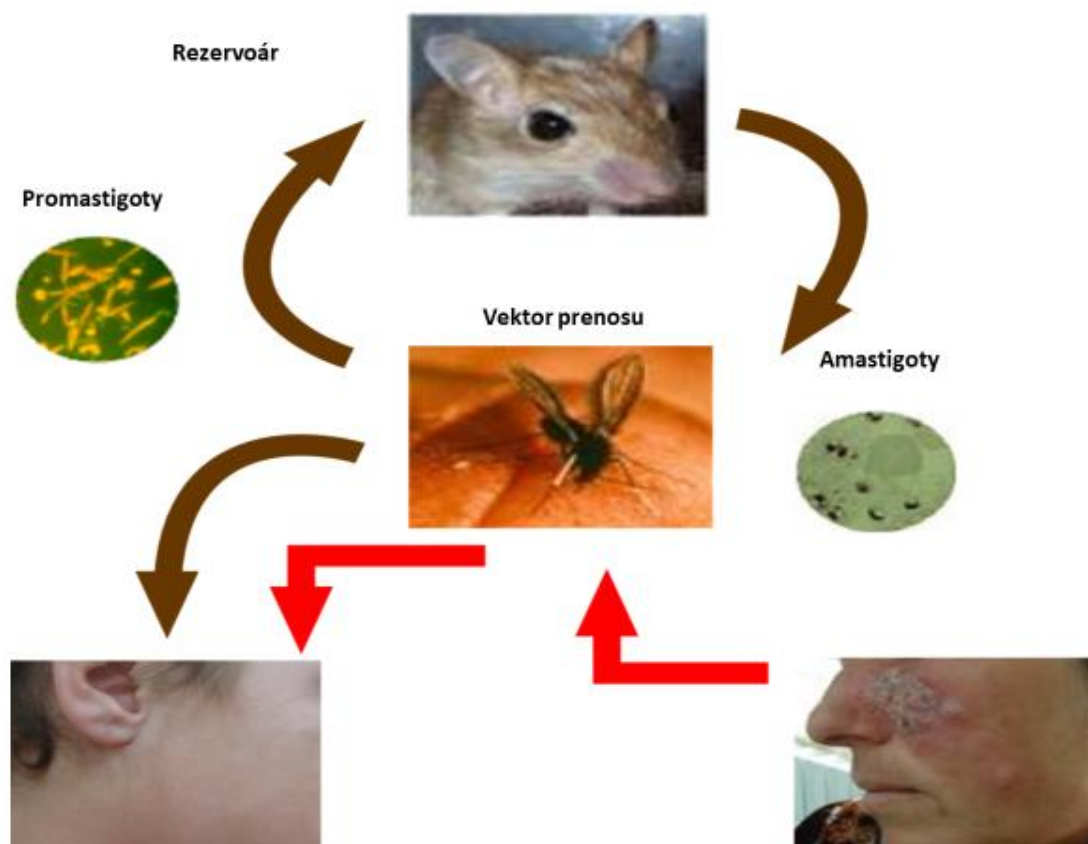
Patogénny potenciál

Ochorenie vždy začína v koži, v mieste, kde cical nakazený *Phlebotomus*. Vzniká malá papulózna vyrážka. Leishmanie majú afinitu k retikuloendotelovému systému a invadujú do jeho buniek, mononukleárných makrofágov, polymorfonukleárných neutrofilov v krvi, lymfe a kostnej dreni.

Ochorenia

Pri kožnej leishmanióze sa vytvára ťažko hojiteľný vred (*L. tropica*), alebo sa šíri do buniek nazofaryngeálnych slizníc (*L. braziliensis* a *L. mexicana*). Pri kožných formách rozoznávame tri typy lézií – ulceróznou, verukóznou a nodulárnu. Pri viscerálnej forme leishmaniózy (*L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*) je kožná vyrážka malá, ale parazity sú makrofágmi zanášané do vnútorných orgánov, lymfatického systému a kostnej drene. Inkubačný čas je niekoľko mesiacov, ba až rokov. Dva vrcholy horúčky za deň sú typické pre Kala-azar. Časť pacientov má charakteristickú triádu symptómov: horúčka -

chradnutie - vyklenuté brucho (vyvolané hepatosplenomegáliou a ascitom). Vo väčšine neliečených prípadov sú prejavmi: edémy kože, dyzentéria, krvácanie do tkanív, kachexia a smrť.



Obr. 272. Kožná leishmanióza – prenos.

https://www.researchgate.net/figure/Cutaneous-leishmaniasis-transmission-cycle-for-zoonotic-cutaneous-leishmaniasis-L_fig1_289670636

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika sa opiera o priamy mikroskopický (aj kultivačný) dôkaz parazita v odtlačkoch, zoškraboch z kožných lézií, krvi, kostnej drene, pečenej alebo slezinej biopsie. Vysokú citlivosť i špecifickosť preukazujú metódy PCR. Z nepriamych metód sú to serologické reakcie (ELISA, priama aglutinácia), kožný test (tzv. Montenegrov kožný test), pokus na zvierati. Všetky hematoflagelata vyvolávajú zvýšenie sérových globulínov, zníženie albumínov a anémiu rôznej intenzity. Podávajú sa antimónové preparáty, sodium stiboglukonát injekčne do okolia kožných lézií, intravenózne pri viscerálnej forme. Pri začínajúcej mukomembranóznej forme sa odporúča intravenózne podanie emetín – tartarátu.

4.4 Medicínsky významné červy

4.4.1 NEMATHELMINTHES

Črevné nematoda

Enterobius vermicularis

Charakteristika

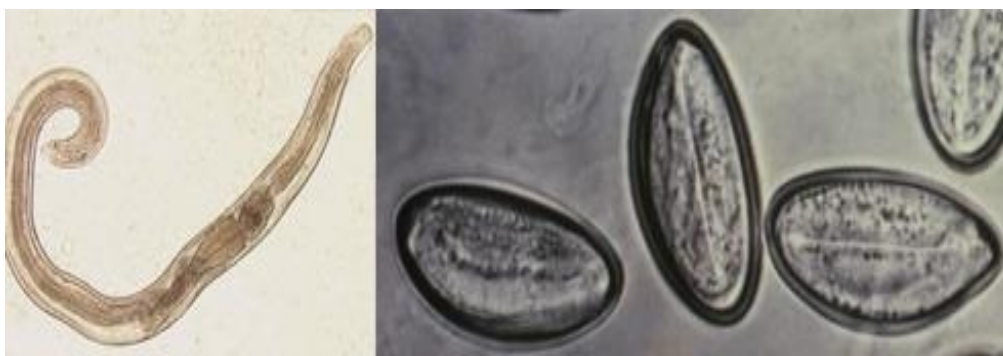
E. vermicularis je najčastejším črevným parazitom u nás. U detí do 10 rokov sa vyskytuje v 30 až 60%. Sú to krátke nitkovité červíky (samec meria 2-5 x 0,1-0,2 mm, samica 8-13 x 0,2-0,5 mm). Samička vylieza z konečníka a do okolia (perianálnych rias) kladie vajíčka, preto sa tieto nachádzajú v stolici zriedkavo. Jedna samička nakladie aj 10 tisíc vajíčok.

Patogénny potenciál

Človek je jediným hostiteľom. Nákaza sa prenáša priamym prenosom vajíčok z perianálnej krajiny znečistenými prstami do úst (autoinfekciou), priamym kontaktom osôb v rodinných a detských kolektívoch, kde sa vajíčka predávajú dotykom ruky alebo vkladáním kontaminovaných predmetov do úst (v školách a predškolských zariadeniach) a prehĺtnutím vajíčok so zvráteným prachom. Rozšírenie *E. vermicularis* je kozmopolitné.

Ochorenia

Jedna tretina nakazených ľudí býva bez symptómov. Pri masívnej infekcii vyvoláva dráždenie črevnej sliznice, hnačky, nauzeu, eosinofíliu. Objavuje sa intenzívne svrbenie v okolí konečníka.



Obr. 273. *Enterobius vermicularis* – červ a vajíčka.

<https://www.cdc.gov/parasites/pinworm/index.html>

Laboratórna diagnostika a liečba

Dôkaz *Enterobius vermicularis* sa opiera o mikroskopický nález vajíčok v perianálnom odtlačku. Odber sa vykonáva ráno hneď po zobudení, pričom perianálna oblasť nesmie byť umytá ani predchádzajúci večer, ani pred odberom. Páska sa lepiacou stranou pritlačí na perianálnu oblasť a nalepí na podložné sklíčko. Vzhľadom k nepravidelnému

vyučovaniu vajíčok samičkami, je na vyšetrenie potrebné odobrať minimálne 3 vzorky s odstupom aspoň jedného dňa. Mikroskopicky je možné identifikovať charakteristické vajíčka (Manuál pre odber stolice a perianálneho zlepu na parazitologické vyšetrenie. <https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=396>). Účinným liekom je derivát pyrvínia v jednorázovom podaní alebo mebendazol.

Ascaris lumbricoides

Charakteristika

Je to parazitický červ, spôsobuje askariózu. Ochorenie sa vyskytuje najmä v krajinách s nízkym hygienickým štandardom a v oblastiach, kde sa hnoji fekáliami. Postihnuté sú najmä deti. Dospelé červy žijú v tenkom čreve človeka. Zdrojom nákazy je človek, ktorý vylučuje vajíčka v stolici.

Patogénny potenciál

Infekcia nastáva po konzumácii jedla kontaminovanom vajíčkami, v čreve sa vyliadne larva, prenikne cez črevnú stenu a migruje krvným obehom do pľúc, postupuje do priedušnice, kde je vykašlaná a opäť prehltnutá. Larvy prechádzajú cez žalúdok znova do čрева, kde dorastú na dospelé červy. Dospelé červy žijú 1 až 2 roky (infikované osoby môžu ostať nakazené dlhodobo).



Obr. 274. *Ascaris lumbricoides* - červ a vajíčka.

<https://www.cdc.gov/parasites/ascariasis/>

Ochorenia

V mnohých prípadoch nákaza prebieha asymptomaticky. Ťažkosti môže spôsobiť u malých detí, veľký počet červov môže spôsobiť bolesti brucha až ileus. Červ môže príležitostne migrovať do apendixu a spôsobiť jeho zápal, podobne môže spôsobiť obštrukcie žlčových ciest. Migrácia lariev cez pľúca môže spôsobiť kašeľ, dyspnoe, hemoptýzu a eozinofilnú pneumonitídu (Loefflerov syndróm).



Obr. 275. *Ascaris lumbricoides* – larvy v pľúcach.

<https://slideplayer.com/slide/8310292/>

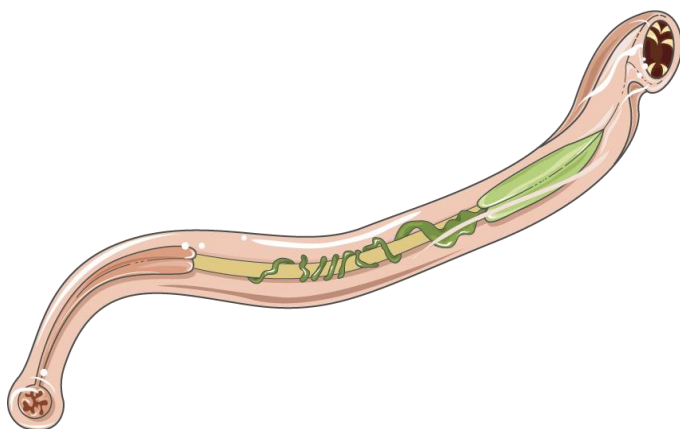
Laboratórna diagnostika a liečba

Najjednoduchšou a tiež najspoľahlivejšou diagnostikou ochorenia je makroskopická identifikácia dospelého červa alebo dôkaz vajíčok v stolici mikroskopickým vyšetrením po koncentrácii sedimentačnou metódou a v priamom nátere stolice. Využitie sérologických vyšetrovacích metód v diagnostike askariózy ako alternatívnych metód zostáva stále problematické. V terapii sa osvedčili mebendazol a albendazol.

Ancylostoma duodenale

Charakteristika

Parazituje v tenkom čreve, vyvoláva ankylostomózu. Vyskytuje sa v trópopch a v subtropoch, kde je prítomná najmä dobre drénovanej pôde. Parazit môže vyvolávať alergické reakcie, larvy migrujúce do pľúc spôsobujú pneumónie, obvykle je prítomná eozinofília.



Obr. 276. Ancylostoma duodenale – schéma.

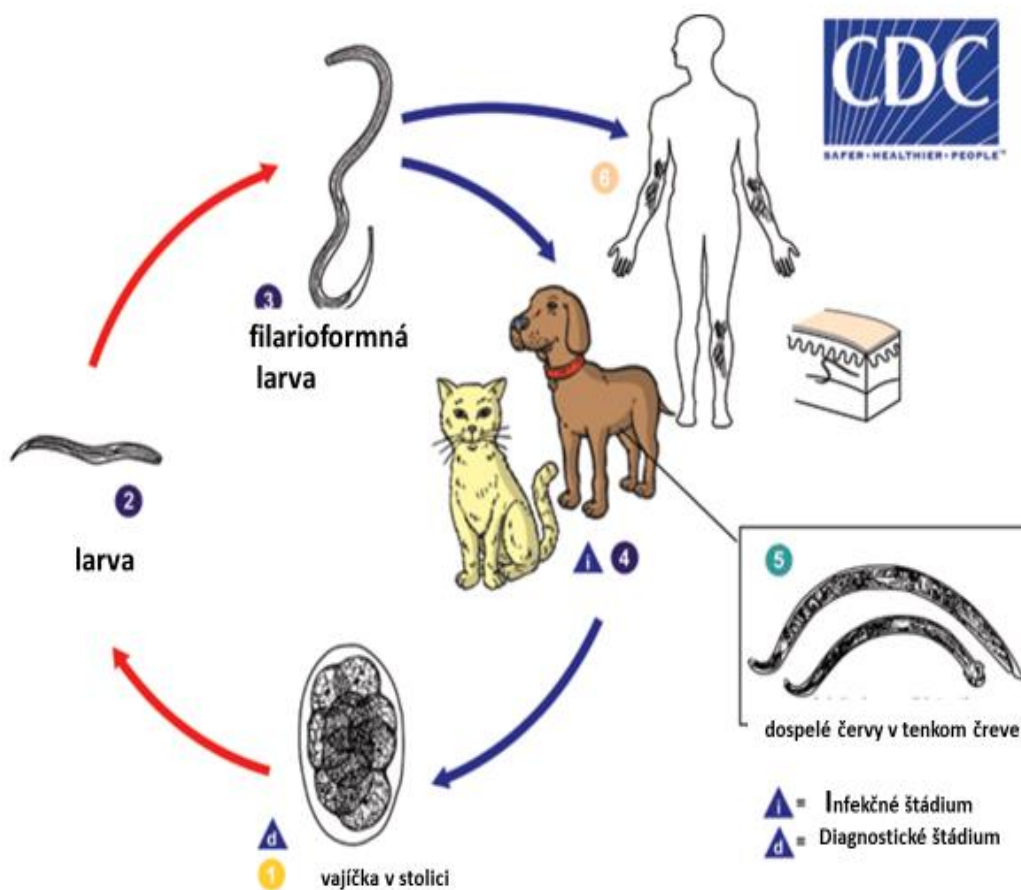
https://smart.servier.com/smart_image/ancylostoma-duodenale/

Patogénny potenciál

Ankylostoma je zavítaná do steny čreva, samička produkuje vajíčka, ktoré sa stolicou dostávajú do pôdy. Z nich sa vyľahnu rabdiformné larvy. Po dvoch dňoch sa vyvíjajú filarioformné larvy, ktoré aktívne prenikajú cez kožu, dostávajú sa do krvného obehu a do pľúc, bronchiolov a cez bronchy do faryngu, kde sú prehltnuté. V tenkom čreve definitívneho hostiteľa dospievajú a vylučujú vajíčka.

Ochorenia

Penikanie lariev do kože vyvoláva svrbiaču dermatitídu. Počas migrácie lariev sú prítomné infiltráty v pľúcach, môže sa vyvinúť pľúcna fibróza. Prítomné sú nešpecifické gastrointestinálne príznaky. Červy cicajú krv, preto sa vyvíja anémia.



Obr. 277. Ankylostoma- cesta prenosu.

<https://infograph.venngage.com/p/196255/hookworm>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika je založená na náleze vajíčok v stolici. V terapii sa osvedčili benzimidazolové preparáty.



Obr. 278. *Ancylostoma duodenale*.

<http://www.biolib.cz/en/image/id17478/>

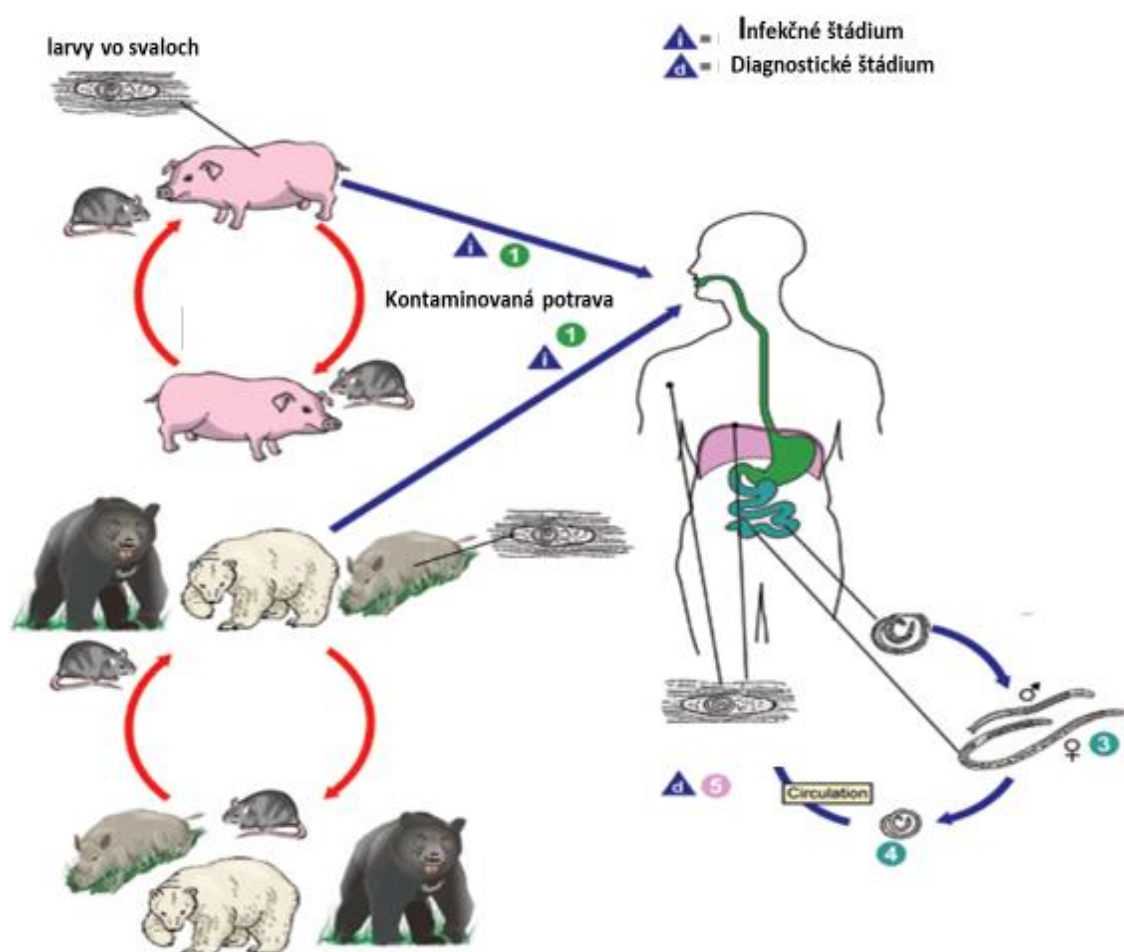
Trichinella spiralis

Charakteristika

Trichinella vyvoláva trichinelózu. Rezervoárom sú ošípané, diviak, vlk, pes, rys, líška. Ochorenie sa vyskytuje v menších epidémiách po konzumácii tepelne neupraveného mäsa.

Patogénny potenciál

V mäse sa nachádzajú larvy, v tenkom čreve hostiteľa dospievajú. Samičky sa zavrtávajú do črevnej sliznice a rodia živé larvy, ktoré sú aktívnym pohybom alebo krvnou cestou zanesené do rôznych orgánov, hlavne do priečne pruhovaných svalov, kde sa larvy opúzdria. Puzdra kalcifikujú a larva prežíva niekoľko rokov. V okolí opuzdrenej larvy sa vyvíja zápalová reakcia

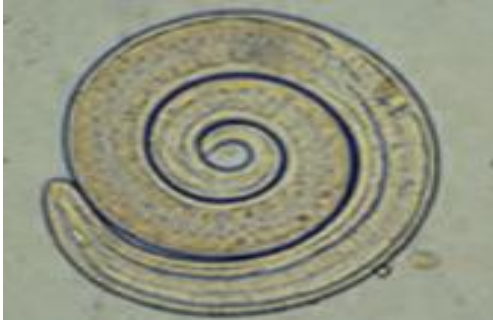


Obr. 279. Trichinelóza – cesta prenosu.

<https://www.cdc.gov/parasites/trichinellosis/biology.html>

Ochorenia

Prejavy ochorenia závisia od množstva skonzumovaných lariiev. Infekcia môže prebiehať bezpríznakovo alebo má fulminantný priebeh s hnačkou a horúčkou, ktorý môže zapríčiniť smrť pacienta.



Obr. 280. *Trichinella spiralis*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ed/Trichinella_larvaeG.JPG

Laboratórna diagnostika a liečba

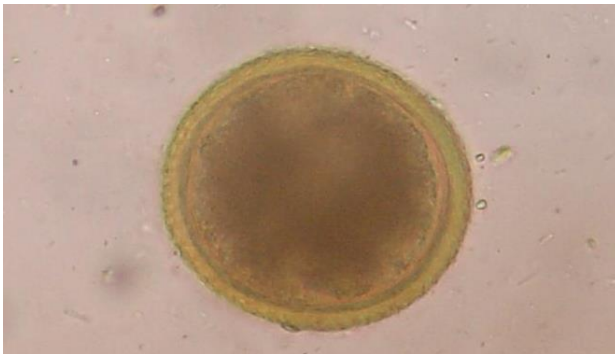
Trichinely je možné dokázať v excidovaných vzorkách z tkanív, v mikroskope sú viditeľné opuzdrené larvy. V nepriamej diagnostike sa dokazujú protilátky pomocou testu ELISA. Na liečbu sa používajú deriváty benzimidazolu vo vysokých dávkach spolu s kortikosteroidmi.

Tkanivové nematoda

Toxocara canis/cati

Charakteristika

Dospelé červy parazitujú v tráviacom trakte psa/mačky, vajíčka sú vylučované do prostredia. Nákaza je viazaná na geofágiu.



Obr. 281. Vajíčko *Toxocara canis*.

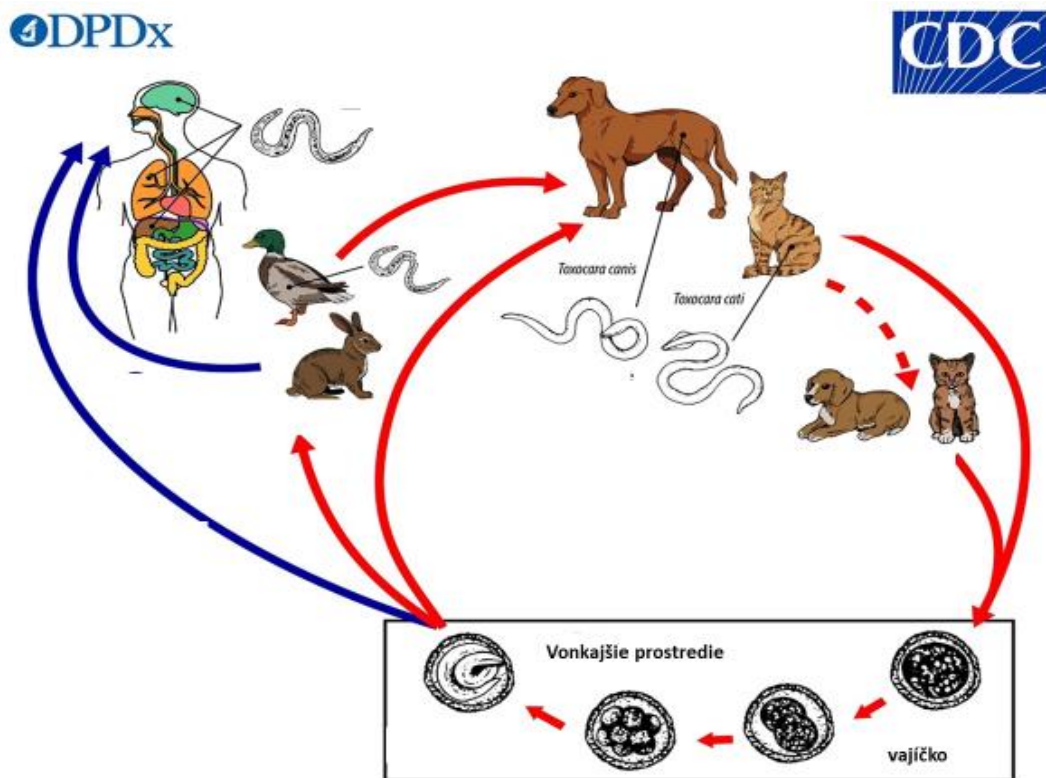
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e0/Toxocara_canis.JPG

Patogénny potenciál

Po prehltnutí vajíčok sa za 2-7 týždňov vyvinú infekčné larvy, ktoré sa cez stenu čreva dostávajú krvnou cestou do pečene, pľúc a centrálného nervového systému.

Ochorenie

Klinické prejavy sú rôzne, súvisia s lokalizáciou lariev. Býva prítomná eozinofília, hepatomegália, lymfadenopatia a pľúcne infiltrácie ako aj postihnutie oka.



Obr. 282. Toxokara – cesta prenosu.

<https://www.cdc.gov/parasites/toxocariasis/biology.html>

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika je založená na sérologickom dôkaze protilátok, vhodné sú testy ELISA a Western blot. Dostatočne účinný liek nie je k dispozícii, používa sa tiabendazol a mebendazol.

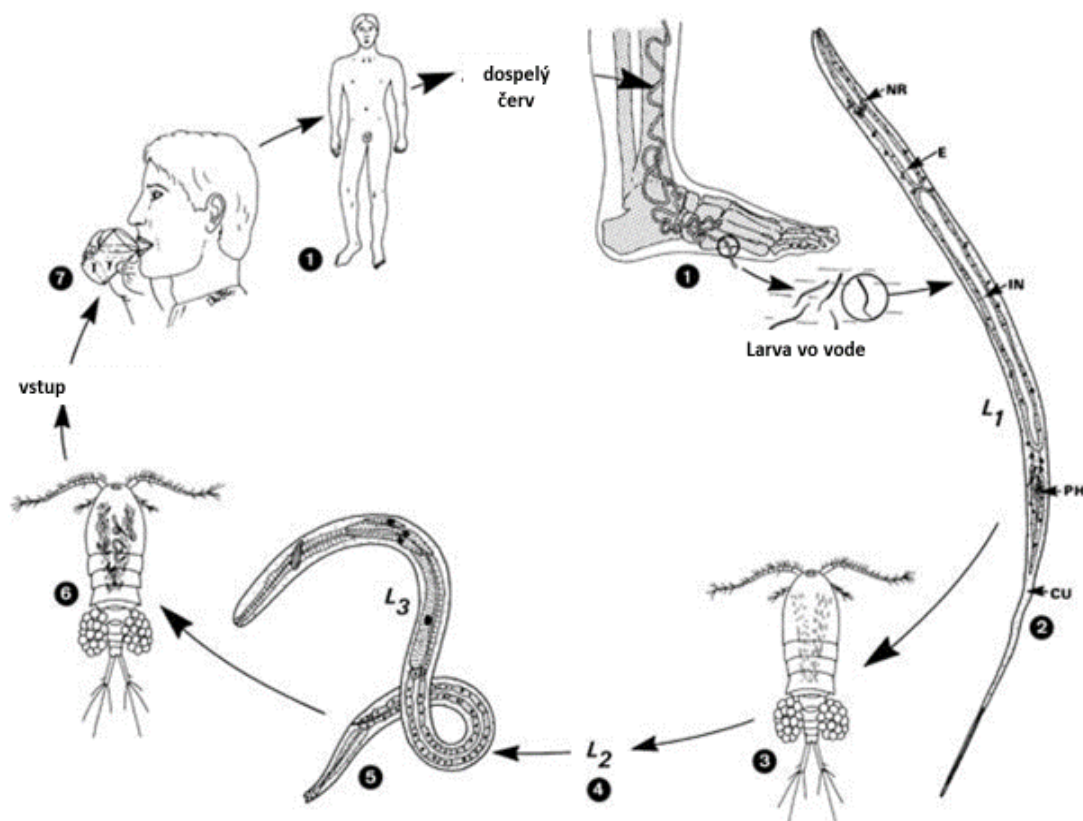
Dracunculus medinensis

Charakteristika

Patrí medzi filárie. Výskyt je endemický v tródoch a v subtródoch s primitívnymi zdrojmi pitnej vody. Medzihostiteľom je kôrovec z rodu *Cyclops*, definitívnym hostiteľom je človek.

Patogénny potenciál

Človek sa nakazí konzumáciou kontaminovanej vody, larvy sa uvoľňujú v čreve, prenikajú cez stenu duodena a lymfatickými cestami prenikajú do retroperitoneálneho väziva, kde dospievajú. Gravidná samička žije v podkožnom tkanive, pri kontakte postihnutej časti tela s vodou vysunie časť svojho tela a vylučuje larvy.



Obr. 283. *Dracunculus medinensis* – životný cyklus.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/59/Dracunculus_medinensis.jpg

Ochorenia

Typickým prejavom drakunkulózy je tvorba podkožných ulcerujúcich abscesov.

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika ochorenia spočíva v náleze filárií v podkožnom tkanive, liečba je chirurgická.



Obr. 284. Odstraňovanie *Dracunculus medinensis*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/59/Dracunculus_medinensis.jpg

Loa loa je očný červ, vyskytuje sa v Afrike, dospelé červy žijú v podkožnom tkanive, putujú do kože, prenikajú cez rohovku a spôsobujú reaktívnu konjunktivitídu. Vektorom prenosu je ovad rodu *Chrysops*.

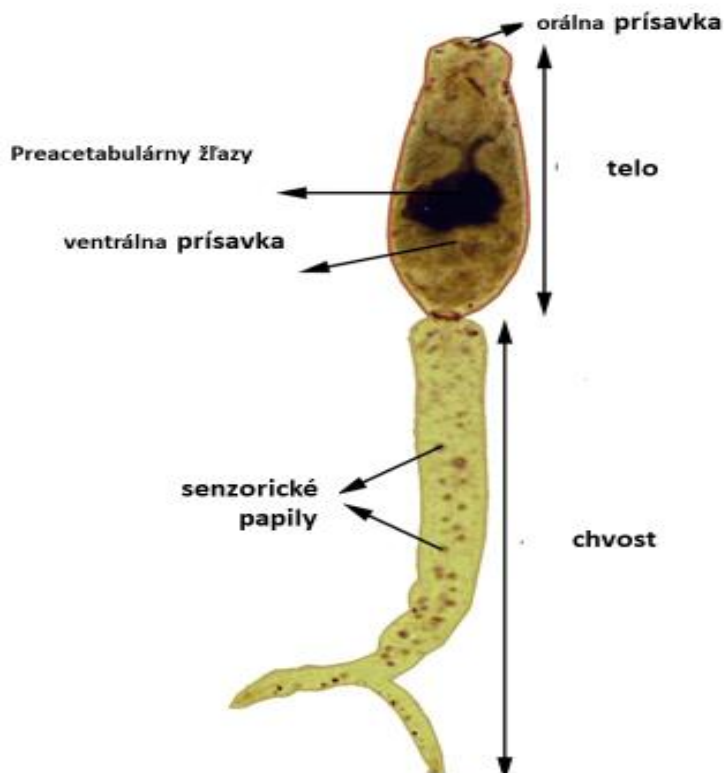
4.4.2 PLATHELMINTHES

Trematodes

Schistosoma mansoni/haematobium

Charakteristika

Parazit patrí medzi krvné trematoda, parazituje v krvných cievach portálneho obehu, v mezenterických krvných cievach (*Schistosoma mansoni*) a v krvných cievach močového systému (*Schistosoma haematobium*). Sú oddeleného pohlavia, nemajú druhého medzihostiteľa.



Obr. 285. *Schistosoma* – stavba tela.

<https://www.waterpathogens.org/book/schistosoma>

Patogénny potenciál

Larvy (cerkárie) žijú vo vodných slimákoch, opúšťajú ich a vo vode aktívne prenikajú cez kožu človeka a cestujú krvným obehom po celom tele. Klinické prejavy závisia od lokalizácie parazitov.



Obr. 286. Vajíčko *Schistosoma mansoni*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9a/Schistosoma_mansoni_egg_4841_lores.jpg

Ochorenia, liečba

Klinické prejavy závisia od lokalizácie parazitov. Vyvolávajú urogenitálnu schistomózu, ktorá má vysokú morbiditu a mortalitu. Najúčinnější je prazikvantel.

Cestodes

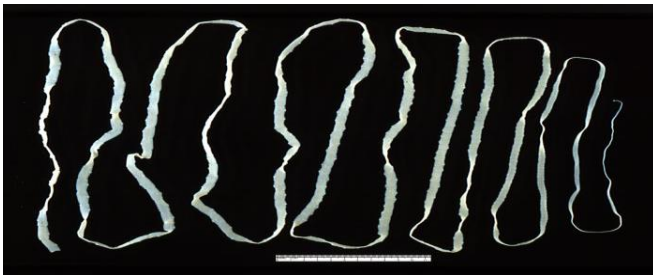
Taenia saginata

Charakteristika

Pásomnica sa vyskytuje tam, kde sa konzumuje nedostatočne tepelne upravené hovädzie mäso. Vďaka hygienickým zásahom sa v reštauráciách a jedálňach verejného stravovania zakazuje podávať surové hovädzie mäso (tatársky biftek), a tak výskyt pásomnice je minimálny. Dôležitá je profylaxia na zabránenie kontaminácie lúk ľudskými fekáliami v miestach, kde sa pasie dobytok.

Patogénny potenciál

Parazituje v tenkom čreve človeka, ktorý je jej definitívny hostiteľ. Dospelý červ môže v čreve prežiť aj 25 rokov. Meria 3 – 6 metrov, maximálne 10 až 12 m. Scolex má 4 prísavky, pomocou ktorých sa prichytí na sliznici tenkého čreva. Nakazený človek vylučuje denne niekoľko článkov, z ktorých každý obsahuje 100 – 250 tisíc vajíčok. Vajíčko musí prehltnúť medzihostiteľ – hovädzí dobytok, aby vývoj pokračoval. V čreve kravy sa z vajíčka uvoľní larva, ktorá preniká cez črevnú stenu a krvou je zanášaná do svaloviny medzihostiteľa. Tu sa mení na larvocystu „cysticercus bovis“ (5 – 10 mm).



Obr. 287. *Taenia saginata*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e2/Taenia_saginata_adult_5260_lores.jpg

Ochorenia

Ak človek konzumuje nakazené mäso, surové alebo polosurové, skolex sa uvoľní z cysticerka a prisaje sa na črevnú sliznicu a dorastie za 2 – 3 mesiace na dospelú pásomnicu. Mnohí ľudia sú nosičmi pásomnice bez akýchkoľvek chorobných príznakov. Iní pociťujú krčovité stavy a tráviace ťažkosti.

Laboratórna diagnostika a liečba

Dôkaz proglotidov, prípadne uvoľnených vajícok v stolici. Proglotidy nezriedka vychádzajú z análneho otvoru samovoľne, bez defekácie. V liečbe sa používajú niklosamid, prazikvantel.

Taenia solium

Parazit žije v tenkom čreve, človek sa nakazí tepelne neupraveným mäsom z ošípanej, kde sa nachádzajú larvocysty (cystercus cellulosae). Larvy prenikajú do rôznych tkanív, kde vzniká larvocysta. Človek môže byť náhodným hostiteľom. Larvocysty v oku a v mozgu vyvolávajú vážne poruchy. Ochorenie larválnym štádiom sa nazýva cysterkóza. Nález proglotidov, prípadne vajícok v stolici potvrdí diagnózu. V liečbe sa osvedčili niklosamid a prazikvantel.

Hymenolepis nana

Je to najmenšia ľudská pásomnica (20-30 mm). Medzihostiteľom sú muchy, môže sa šíriť aj priamym inerhumánnym prenosom alebo kontaminovanými predmetmi. Dokazuje ju prítomnosť vajícok v stolici. V liečbe sa používa niklosamid v jednorázovej dávke, ktorú je potrebné opakovať po 4 -7 dňoch.



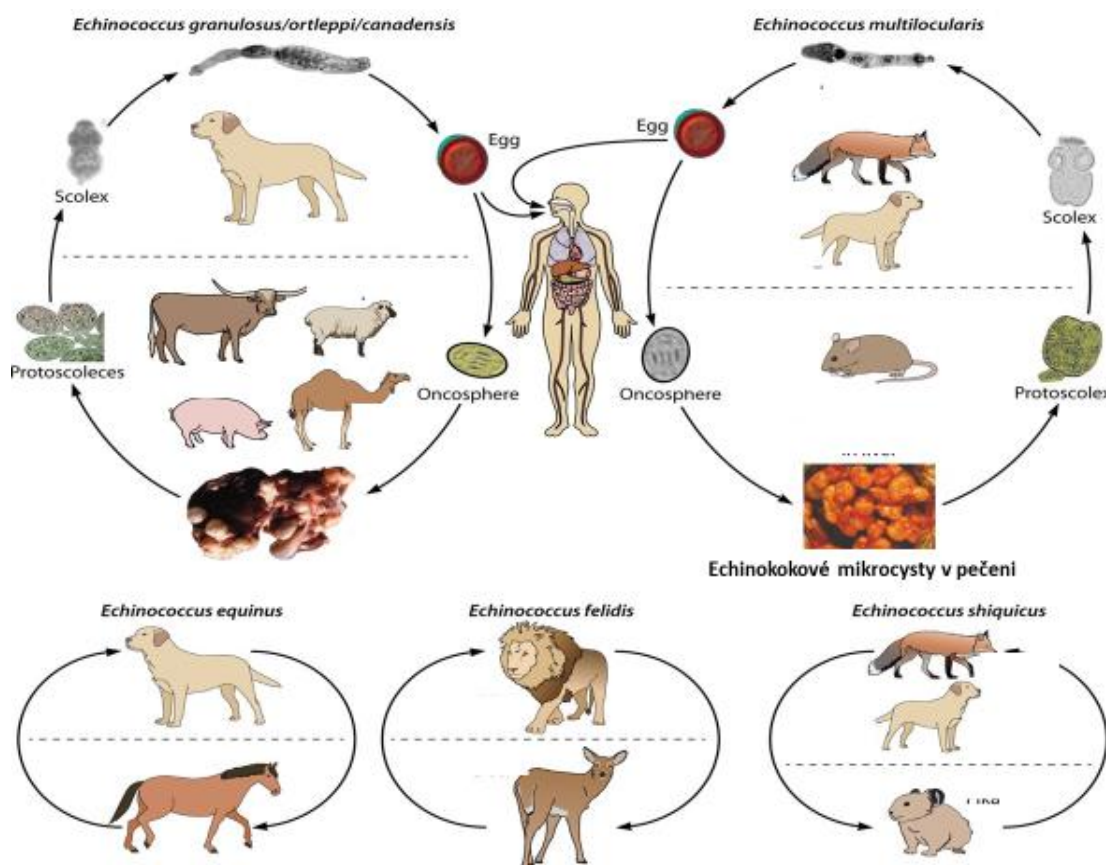
Obr. 288. Vajíčko *Hymenolepis nana*.

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/93/H_nana_eggB.JPG

Echinococcus granulosus

Charakteristika

Patrí medzi pásomnice, má dĺžku iba 5 mm, v dospelosti parazituje u psových mäsožravcov. Dospelé červy v tráviacom trakte zvierat produkujú infekčné vajíčka.



Obr. 289. Echinokoky – cesty prenosu.

<https://cmr.asm.org/content/32/2/e00075-18/figures-only>

Patogénny potenciál

Po požití vajíčok sa vyvinie larva (onkosféra), ktorá penetruje cez stenu čreva, vstupuje do cirkulácie a je zanesená do rôznych orgánov (hlavne do pečene, pľúc, centrálného nervového systému a kostí). Postupne sa vytvára cysta, ktorá rastie pomaly, pripomína tumor. Z materskej cysty sa môžu vyvinúť ďalšie, dcérske, cysty.

Ochorenia

Ochorenie sa nazýva echinokokóza (hydatióza). Vzhľadom na pomalý rast cysty (až 20 rokov) sa klinické prejavy vyvíjajú postupne, súvisia najmä s útlakom okolitých tkanív expandujúcou cystou. V pečeni dochádza k útlaku žlčových a krvných ciev, môže dôjsť až k ruptúre žlčových, typická je bolesť. Ak sa cysta vyvinie v pľúcach, typickými príznakmi sú kašeľ, dyspnoe a bolesť na hrudníku. V prípade ruptúry cysty nastupuje horúčka, urtika a zriedkavo môže dôjsť až k vývoju anafylaktického šoku a k smrti pacienta.

Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika je zložitá, založená na klinických prejavoch ochorenia, zobrazovacie metódy a sérologické testy slúžia na potvrdenie diagnózy. Liečba je chirurgická – odstránenie cysty.

A. Odber stolice na parazitologické vyšetrenie

Vzorku stolice na parazitologické vyšetrenie je potrebné odobrať pred aplikáciou bária, bizmutu, minerálnych olejov, antibiotík a antiparazitík. Čerstvá stolica v objeme 3 - 5 ml (veľkosť vlašského orecha) sa odoberá trikrát za sebou (optimálne každý druhý deň) do sterilných odberových nádob. Pri suspektnej amebóze je potrebné doručiť stolicu na vyšetrenie čo najrýchlejšie, maximálne do 30 min. po defekácii (to isté platí pre diagnostiku iných črevných prvokov). Ak nemožno vzorku rýchlo doručiť do laboratória, materiál sa uschováva v chladnom prostredí (nesmie zmrznúť) alebo sa stolica konzervuje, napr. formalínom, Schaudinovým roztokom a pod. Pri negatívnom laboratórnom náleze, ale pretrvávajúcich príznakoch svedčiacich o parazitóze sa materiál na vyšetrenie odoberá ešte dvakrát, vždy po 4 - 7 dňoch, pri suspektnej amebóze a giardióze až 10-krát v dvojdňových intervaloch.

B. Aké parazity je možné dokázať mikroskopickým vyšetrením stolice?

V stolici dokazujeme prítomnosť črevných parazitov, ich larvy alebo dospelé červy, prítomnosť vajíčok a cyst priamymi vyšetrovacími metódami. Už makroskopicky možno v stolici zistiť prítomnosť tiel niektorých helmintov (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma duodenale*) alebo ich častí, napr. články pásomnice *Taenia* sp. Väčšinou však diagnostikujeme prítomnosť protozoí, cyst, lariev a vajíčok mikroskopicky po koncentrácii metódami sedimentačného alebo flotačného typu, alebo v priamych rozteroch po príprave fixáciou a farbením. K infekcii črevnými parazitmi väčšinou dochádza preniknutím cyst alebo vajíčok parazitov do tráviacej sústavy pitím kontaminovanej vody alebo požitím kontaminovanej potravy. Mnohé parazitárne ochorenia, ktoré sa vyskytujú v trópopch a subtrópopch majú výrazný endemický charakter. Preto je dôležité pri týchto vyšetreniach, resp. pri diferenciálnej diagnostike myslieť aj na cestovateľskú anamnézu.

C. Opíšte metódy používané pri parazitologickom vyšetrení stolice.

Na mikroskopický dôkaz vajíčok červov používame metódu hrubého náteru podľa Katoa. Jej podstatou je hrubý náter stolice prekrytý celofánovým prúžkom, ktorý je impregnovaný Kato - farbiacim roztokom (malachitová zeleň, glycerol, fenol). Vajíčka helmintov rozpoznávame podľa charakteristického tvaru, veľkosti a farby. Na dôkaz cyst prvokov a niektorých vajíčok helmintov v stolici používame pre vyššiu záchytnosť tzv. koncentračné metódy. Pri flotačnej koncentračnej metóde (napr. podľa Fausta) sa cysty a vajíčka v koncentrovanom roztoku solí vyplávajú na hladinu, pri sedimentačnej koncentračnej metóde (napr. mertiolát - jód - formaldehydová metóda - MIFC) cysty a vajíčka klesajú ku dnu, takže ich nachádzame v sedimente. Z farbiacich technik, ktoré sa používajú na identifikáciu prvokov sa používa farbenie podľa Giemsa, farbenie podľa Ziehla a Neelsena (*Cryptosporidium* sp.), farbenie trichrómom alebo železitým hematoxylínom. Na farbenie spór mikrosporídií je potrebné použiť špeciálne farbenie. Vhodná je modifikovaná Gramova metóda, striebrenie, fluorescenčná metóda alebo sú vhodné optické bieliče.

OTÁZKY

1. Ako sa klasifikujú parazity.
2. Aké metódy sa používajú v laboratórnej diagnostike parazitóz?
3. Aké sú zásady liečby parazitárnych nákaz?
4. Aké ochorenia vyvoláva *Entamoeba histolytica*?
5. Aká je patogenéza primárnej amébovej meningoencefalitídy?
6. Ako sa prejavuje a diagnostikuje giardióza?
7. Aká je laboratórna diagnostika a liečba trichomonózy?
8. Opíšte vývojový cyklus plazmódií.
9. Ako sa prejavuje malária?
10. Aká je laboratórna diagnostika malárie?
11. Ako sa prenáša toxoplazmóza?
12. Aká je klinická symptomatológia toxoplazmózy?
13. Ako sa diagnostikuje a lieči toxoplazmóza?
14. Aké ochorenia vyvolávajú trypanozómy?
15. Aké ochorenia vyvolávajú leishmánie?
16. Ako sa diagnostikuje *Enterobius vermicularis*?
17. Aké sú prejavy infekcie vyvolanej *Ascaris lumbricoides*?
18. Aké ochorenia vyvoláva *Ancylostoma duodenale*?
19. Aké ochorenia vyvoláva *Trichinella spiralis*?
20. Ako sa prejavuje toxokaróza?
21. Ako sa prenášajú schistosomy?
22. Ako sa prenáša *Taenia saginata*?
23. Aké ochorenia vyvoláva *Taenia solium*?
24. Ako sa prenáša a prejavuje echinokokóza?

LITERATÚRA

Murray P.R. at all.: Medical microbiology, Elsevier 2013, ISBN 987-0-32308692-9, 7th ed.

Bednář M. a kol.: Lékařská mikrobiologie, Marvil, 1996

Dzúrik R., Trnovec T.: Štandardné terapeutické postupy, Osveta, 1997

Greenwood D. a kol.: Lékařská mikrobiologie, Grada, 1999

Ryšková O.: Základy lékařské mikrobiologie a imunologie, Praha, 2000

Nováková E., Kubíčková T., Ondriska F.: Lekárska parazitológia, PRO Banská bystrica 2006, ISBN 80-89057-13-6

Liptáková A. a kol.: Lekárska mikrobiológia. Herba s.r.o. Bratislava, 2019. 1. vydanie. ISBN 978-80-89631-91-9

Washington W., Jr. a kol.: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott Williams & Wilkins, 6 Edition, 2006

Havlík J. a kol., Infektologie, Avicenum Praha, 1990

Kredba V., Ondráček J., Procházka J., Infekční nemoci, Avicenum Praha, 1970

Kmety E. a kol., Epidemiológia, Osveta/Avicenum, Martin, 1983

Balint O. a kol.: Infektológia a antiinfekčná terapia, 2000, Martin

Bazovská, S. a kol.: Špeciálna epidemiológia, 2007, UK Bratislava

Gilbert D. N. et all.: The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy, 2008, Sanford Guide, 38th ed.

Murray P. R. at all.: Medical Microbiology, 2002, Mosby, 4-th ed.

Torres A. G.: Current aspects of *Shigella* pathogenesis, Rev Latinoam Microbiol 2004, 46 (3-4); 89-97

Votava M. a kol.: Lékařská mikrobiologie speciální, 2003, Neptun, Brno

Bednář a kol.: Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie. Triton, 1994.

Gvozdiák J.: Interná medicína. Martin, Osveta 1995

Klener P.: Vnitřní lékařství. Praha, Galén 1999

Zaviačič M.: Kompendium patológie 1. diel. Bratislava, Vydavateľstvo UK 2002

Kubín M.: Tuberkulóza - choroba nepokořená a nezdolaná, Príloha ZdN, 1996, č. 3 s. 1 – 3

Bajan A.: Preventívna chemoterapia tuberkulózy, Respiro, Učebné texty pre postgraduálne štúdium Bratislava 1999, s. 46 – 48

Solovič I.: Súčasný problém liečby tuberkulózy, Respiro 3, 2001, č. 2, s. 7 – 9

Rajecová E., Švejnochová M., Krištúfek P.: Tuberkulóza v súčasnosti. Lek Obz 49, 2000, č. 3, 99 – 102

Rozborilová E., Chovan L.: Metodické odporúčanie HO MZSR pre manažment TBC a ostatných mykobakterií. Espiro, 7, 2005, č. 2, s. 11 – 17

Zaviačič M.: Kompendium patológie 1. diel. Bratislava, Vydavateľstvo UK 2002

Parkányi V., Vašíček D., Ondruška L., Rafay J.: Gonozomálny skrining jednoduchých králikov selektovaných pre tkanivové kultúry. Acta fytotechnica et zootechnica – Mimoriadne číslo, Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, 2006, s. 64

Nemcová J.: Choroby tráviaceho traktu.

Dostupné na: <http://www.hpl.sk/ochoreli-ste/choroby/salmonelozy>

Rovná D., Hanzen J.: Týfus. Dostupné na: <http://www.hpl.sk/ochoreli-ste/choroby/tyfus>

Rozborilová E., Solovič I., Chovan L.: Metodické odporúčanie hlavného odborníka MZ SR pre odbor pneumológia a ftizeológia na vyšetovanie QuantiFERON® TB Goldtest u pacientov liečených biologickou liečbou.

Dostupné na: www.zdravie.sk/files/spfs/odporucanie_quantiferon.doc

Solovič I., Klimentová Z.: Latentná tuberkulózná infekcia a biologická liečba. Dostupné na: <http://www.solen.sk/pdf/ce42a0101cce9767700f3a600b5d0046.pdf>

Bojňanský J.: Choroby dýchacích ciest. Choroby vyvolané mykobaktériami, Multirezistentná a X-liekovo rezistentná tuberkulóza,

Dostupné na: <http://www.hpl.sk/ochoreli-ste/choroby/tuberkuzola>

Lisalová M., Póczová M., Rovná D., Sládek M., Hanzen J.: Systémové ochorenia - invazívne mykózy. Dostupné na: <http://www.hpl.sk/ochoreli-ste/choroby/inv-mykozy>

Voleková A.: Antimykotiká v dermatológii. Dermatol. prax, 2012, 6(4): 152–157,

Dostupné na : <http://www.solen.sk/pdf/f0a955ca47434f7612732e28e4e85817.pdf>

Voleková A., Baroňáková A.: Superficiálne mykózy. Via pract., 2005, roč. 2 (3): 129-133 Dostupné na: http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=415

Szilágyiová M.: Parazitárne ochorenia – aktuálne poznatky, Via pract., 2006, roč. 3 (11): 515–517. Dostupné na:

http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=1001

Ondriska F.: Lexikón lekárskej parazitológie, HPL spol. s r.o., Bratislava, 2012, ISBN 978-80-970873-3-3,

Dostupné na: <http://www.hpl.sk/odborna-zona/preview-file/470149d4909d7cc218ad2cfb6ae809d6>

Výšetrenie protilátok proti *Toxoplasma gondii* (IgG, IgM, IgA, avidita IgG),
Dostupné na: <http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/parazitologia/toxopla>
Ondriska F., Vozárová G., Pencáková S., Šoltésová A., Šišková L.: Hodnota dôkazu
protilátok IgG proti *Ascaris lumbricoides*
Dostupné na :
https://www.fmed.uniba.sk/fileadmin/user_upload/editors/ustavy/parazitologia/Ondrisk
a....pdf

Mikroskopické a kultivačné vyšetrenia na dermatofyty.
Dostupné na: <http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/mykologia/dermatofyty>

Mikroskopické a kultivačné vyšetrenia na vlákňité huby.
Dostupné na: <http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/mykologia/mikroskop>

Ercoli L, Gallina S, Nia Y, et al. Investigation of a Staphylococcal Food Poisoning
Outbreak from a Chantilly Cream Dessert, in Umbria (Italy). *Foodborne Pathog Dis.*
2017;14(7):407–413. doi:10.1089/fpd.2016.2267

Boot, Hein J. et al. Acute hepatitis B in a healthcare worker: A case report of genuine
vaccination failure. *Journal of Hepatology*, Volume 50, Issue 2, 426 - 431 . Dostupné
na: [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(08\)00775-7/abstract](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(08)00775-7/abstract)

Bertoli G. et al.: Ebola virus disease: Case management in the Institute of Infectious
Diseases, University Hospital of Sassari, Sardinia, Italy *Infect Dev Ctries* 2016;
10(5):537-543. doi:10.3855/jidc.8203

Zibaei, Mohammad et al. “Infantile amoebiasis: a case report.” *Case reports in
infectious diseases* vol. 2012 (2012): 614398. doi:10.1155/2012/614398

<http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=19340>
<http://www.hpl.sk/main.php?go=odborna-zona/vysetrenia/serologia/aslo>
<http://www.docstoc.com/docs/31797040/C-REACTIVE-PROTEIN-%28CRP%29-TEST>
<http://www.microbiologybook.org/mhunt/baltimore.htm>
http://www.solen.sk/index.php/index.php?page=pdf_view&pdf_id=7&magazine_id=1
<http://verejnezdravotnictvo.szu.sk/SK/2010/4/borsanyiova.pdf>
<http://www.epis.sk/InformacnaCast/Temy/Chripka/OChripke.aspx>
<http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/parazitologia/rotavirusy>
<http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/serologia/respvir>
<http://sk.wikipedia.org/wiki/Shigella>
<http://www.uvzs.sk/>
www.lfuk.sk/files/ref/priony2.doc
<http://pathmicro.med.sc.edu/Slovak/slovak-bact-chapter11.htm>
<http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/mb/pcr>
http://www.klinickabiochemia.sk/download/OKM_prirucka.pdf
<http://www.hpl.sk/main.php?go=odborna-zona/vysetrenia/parazitologia/stolica>
<http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=25286>
úvodný obrázok:
https://sk.wikipedia.org/wiki/Bakt%C3%A9rie#/media/S%C3%BAbor:Gram_Stain_Anthrax.jpg

Autori: MUDr. Jana Kompaniková PhD., doc. MUDr. Elena Nováková PhD.,
MUDr. Martina Neuschlová, PhD.

Názov: **MIKROBIOLÓGIA NIELEN PRE MEDIKOV**

Vydavateľ: Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Vydanie: druhé upravené a doplnené

Počet strán: 334

ISBN 978-80-8187-069-9

EAN 9788081870699

© J. Kompaniková, E. Nováková, M. Neuschlová, 2019