

Kompaníková

Nováková

Neuschlová

# MIKROBIOLÓGIA

## NIELEN PRE

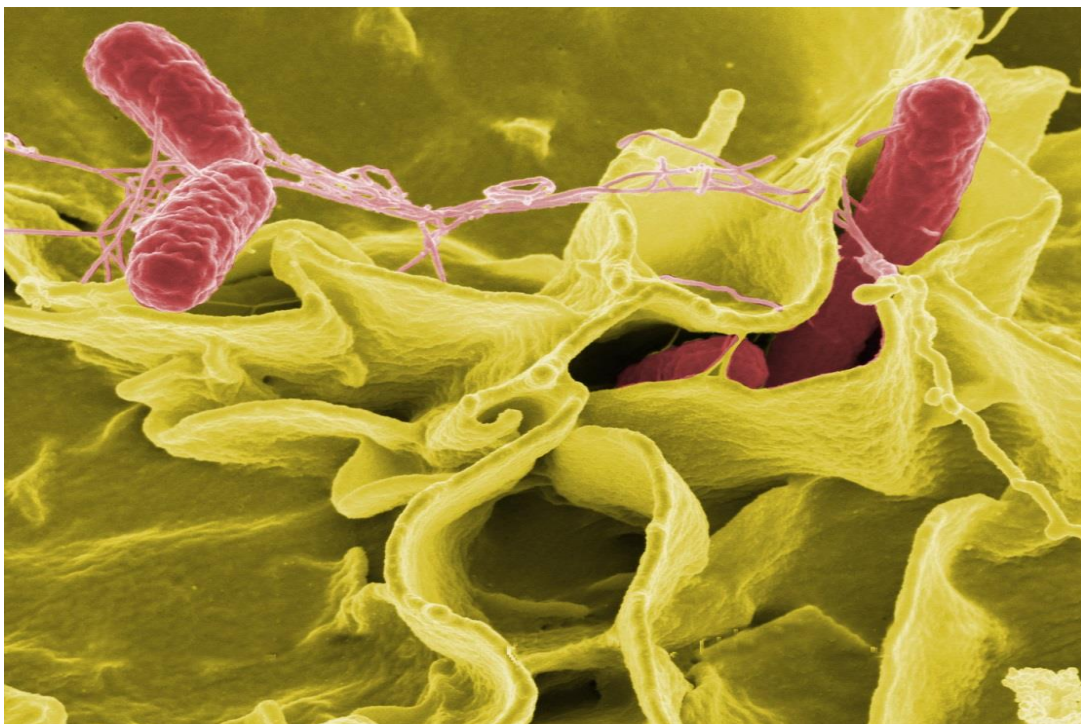
## MEDIKOV

*bakteriológia*

*virológia*

*mykológia*

*parazitológia*



2013



# BAKTÉRIE

## 1.1 Grampozitívne koky

### Stafylokoky

Rod: *Staphylococcus*

druh: *aureus*

*epidermidis*

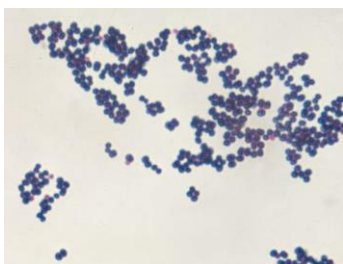
*saprophyticus*

*haemolyticus*

*warneri*

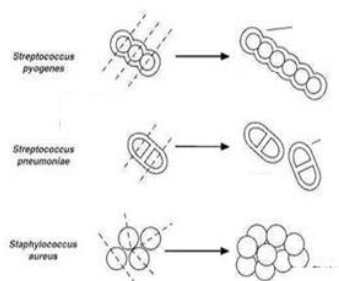
### Charakteristika

Stafylokoky sú fakultatívne anaeróbne grampozitívne koky, obvykle usporiadané v zhlukoch (ako strapce hrozna), vytvorené na základe schopnosti deliť sa v dvoch rovinách. Podľa schopnosti produkovať enzým plazmakoagulázu (PK) existujú dve základné skupiny - plazmakoaguláza negatívne a plazmakoaguláza pozitívne stafylokoky. PK pozitívne sú *S. aureus*, *S. intermedius*, PK negatívne sú *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hemolyticus*. Toto delenie je do určitej miery umelé a nezodpovedá úplne patogénnemu potenciálu stafylokokov. Plazmakoaguláza je enzým premieňajúci fibrinogén na fibrín a spôsobujúci koaguláciu plazmy. *S. aureus* obsahuje voľnú (v cytoplazme prítomnú) a viazanú (v bunkovej stene) plazmakoagulázu.



Obr. 1. Usporiadanie stafylokokov.

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



Obr. 2. Delenie stafylokokov a streptokokov.

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

### Patogénny potenciál a imunita

Puzdro inhibuje chemotaxiu a fagocytózu, uľahčuje adhérenciu na umelohmotné materiály (*St. aureus* aj plazmakoaguláza negatívne stafylokoky). Peptidoglykán bunkovej steny pôsobí chemotakticky na polymorfonukleárne leukocyty, vyvoláva tvorbu hnisu a abscesov, aktivizuje komplement, je rozpúšťaný lyzozýmom (*S. aureus* aj PK negatívne stafylokoky). Je to antigén spúšťajúci imunitnú reakciu. V patogenéze ochorenia sa uplatňujú:

**Proteín A** – len u *S. aureus* - je substancia schopná viazať Fc fragment IgG, čím spôsobí jeho neúčinnosť. Táto vlastnosť sa využíva ako základ sérologických testov.

**Kyselina teichoová** – druhovo špecifický polysacharid bunkovej steny, špecificky sa viaže na fibronektín slizničných povrchov. Protilátky proti kyseline teichoovej sú prítomné pri systémových stafylokokových infekciách.

### Toxíny:

- **cytotoxíny alfa, beta gama, delta:** poškadzujú bunkové membrány a spôsobujú tkanivové poškodenie, tvorbu abscesov, nekróz.
- **Alfa-toxín *S. aureus*** : tento jedinečný 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 produkován väčšinou kmeňov *S. aureus*.
- **Gama-toxín a P-V leukocidín:** Gama-toxíny a Pantanov-Valentinov 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 cytolýzu.
- **Beta-toxín:** poškodzuje bunkové membrány degradáciou lipidov, sfingomyelínu 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 dvojvrstvej plazmatickej membrány.
- **leukocidín** – spôsobuje tvorbu pórov v plazmatickej membráne, zvýšenú permeabilitu 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 následkom 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 scaled skin syndrome). Ochorenie začína ako lokálny periorálny erytém, ktorý sa šíri po celom tele a progreduje až do vyvinutia mäkkých pľuzgierov, ktoré praskajú, čo spôsobuje olupovanie kože ako pri rozsiahlych popáleninách. Je antigénny a vyvoláva tvorbu neutralizujúcich protilátok. Imunologicky je **superantigénom**.
- **TSST – toxic shock syndrome toxin** - toxín produkován 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 patogény a preto aj imunita proti nim je obvykle multifaktoriálna (kožné bariéry, slizničné sekréty, špecifické protilátky).

### Ochorenia

*S. epidermidis* je obvykle prítomný na koži, prípadne orofaryngu, v gastrointestinálnom trakte a v urogenitálnom trakte. Je to podmienene patogénny mikroorganizmus, za určitých okolností môže byť vyvolávateľom vážnych infekcií – subakútna endokarditída. Podobne aj ostatné PK negatívne stafylokoky sa uplatňujú ako saprofýty alebo podmienene patogény vyvolávajúce endokarditídy, bakterémie, infekcie katétrov, náhrad kĺbov a ciev. Vyvolávateľom infektov močových ciest u mladých sexuálne aktívnych žien je *S. saprophyticus*. Diagnosticky významná je jeho rezistencia na novobiocin.

*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. 3. 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.

### Laboratórna diagnostika a liečba

Do roku 1950 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.

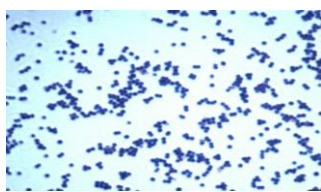
Chirurgický zákrok na odstránenie hnisu z miesta infekcie je dôležitý pri liečbe stafylokokových infekcií a zabezpečení účinnosti a dostupnosti ATB v mieste infekcie.

## Úlohy na praktické cvičenia

### A. Mikroskopia stafylokokov

**Pripravte fixovaný preparát z kultúry *S. aureus*, zafarbíte podľa Grama, mikroskopujte.**

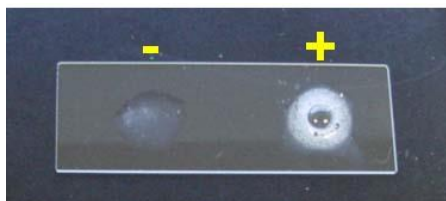
Stafylokoky majú charakteristické usporiadanie do strapcov či nepravidelných zhhlukov. V mikroskopickom obraze budú pri pozorovaní stafylokokov prítomné i ďalšie štruktúry: jednotlivé koky, dvojice kokov (vzájomný dotyk len úzkou plochou) retiazky kokov (rôzne dlhé). Staré stafylokoky strácajú schopnosť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



**Obr. 4. *Staphylococcus aureus* – farbenie podľa Grama.**

### B. Dôkaz produkcie katalázy

Kataláza je enzým, hydrolyzujúci  $H_2O_2$ , ktorý je toxický pre bunku, pričom vzniká kyslík (pozitívna reakcia sa prejaví vznikom bubliniek  $O_2$ ). 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 odlíšenie stafylokokov (kataláza-**pozitívne**) od streptokokov (kataláza-**negatívne**).



**Obr. 5. 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 aeróbnymi (aj anaeróbnymi) podmienkami. 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  $\beta$ -hemolýzy. Hemolýza na krvnom agare vzniká ako dôsledok produkcie cytotoxínov, najmä alfa toxínu. *S. epidermidis* rastie v bielych kolóniách, bez viditeľnej hemolýzy.



**Obr. 6. *Staphylococcus aureus* (vľavo) a *Staphylococcus epidermidis* (vpravo) – kolónie na krvnom agare.**

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

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

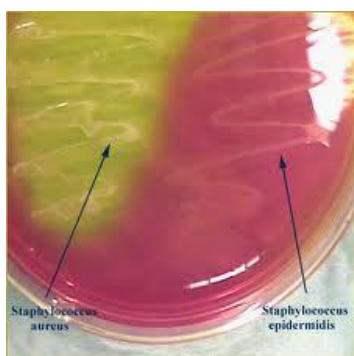
## D. Biochemické vlastnosti stafylokokov

### 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, 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.7. *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

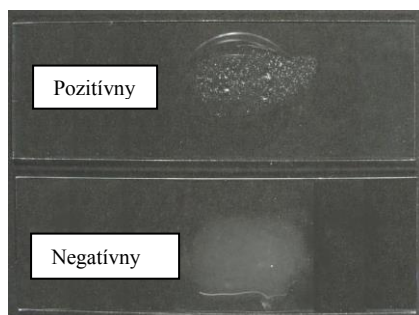
### Odlíšenie *S.aureus* a *S.epidermidis* - podľa produkcie voľnej a viazanej plazmakoagulázy

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:

- Sklíčková 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

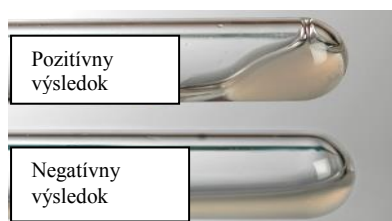


**Obr. 8. Dôkaz viazanej plazmakoagulázy.**

<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 možnej prítomnosti fibrinolýzínu v plazme môže byť koagulum počas inkubácie rozpustené, preto je potrebné odčítavať po 1 hodine, 2 hodinách a po 24 hodinách

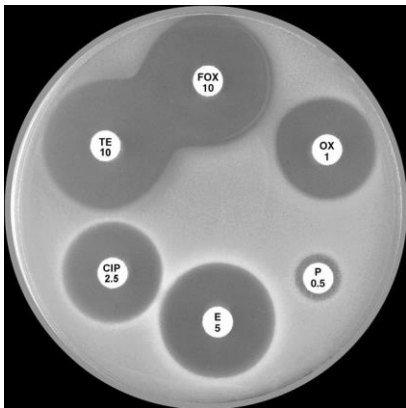


**Obr. 9. Dôkaz voľnej plazmakoagulázy.**

#### 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 ( $\beta$ -laktamáza špecifická pre penicilíny), ktorá hydrolyzuje  $\beta$ -laktámový kruh penicilínu. Boli vyvinuté semisyntetické penicilíny, ktoré sú odolné voči účinkom penicilinázy (metícilín, nafcilín, oxacilín, dicloxacilín).





**Obr. 10. *S. aureus* rezistentný na penicilín - difúzna disková citlivosť.**

[http://web.med.unsw.edu.au/cdstest/gtf\\_cds\\_site/webpages/plates/plate3c.htm](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** (metilín rezistentný *S. aureus*) sú rezistentné na všetky  $\beta$ -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 viažuci proteín *PBP2A*), ktorý zodpovedá za vznik rezistencie. V terapii infekcií vyvolaných MRSA sa používajú: trimetoprim-sulfametoxazol, doxycyklín, klindamycín, linezolid (perorálna liečba), liekom voľby pre intravenóznú terapiu je vankomycín (akceptovateľné alternatívy sú daptomycín, tigeceklín, 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.

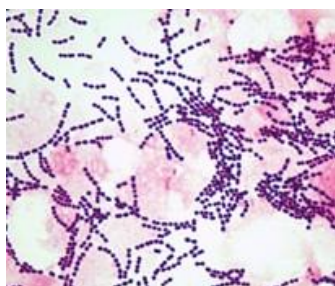
## OTÁZKY

1. Ako sa farbía 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 odlíšenie biochemických vlastností *S. aureus* a *S. epidermidis*?
8. Ako je možné odlíšiť 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.

## Streptokoky a enterokoky

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

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

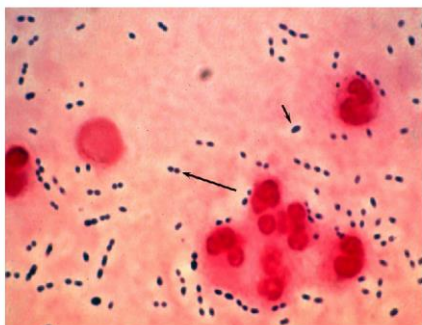


**Obr. 11. Usporiadanie streptokokov do retiazok.**

<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 vagíny) 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). Sú nepohyblivé, neprodukujú katalázu (odlíšenie od stafylokokov). Neschopnosť streptokokov rásť na pôde s eskulínom sa používa na ich odlíšenie od enterokokov. Sú fakultatívne alebo obligátne anaeróbne. Rastú na krvnom agare. Podľa zmeny krvného agaru v okolí kolónie sa rozlišujú streptokoky na alfa hemolytické (neúplná hemolýza, viridácia), beta hemolytické (úplná hemolýza) alebo gama hemolytické (bez hemolýzy).



**Obr. 12. *Streptococcus pneumoniae* – diplokoky.**

## Patogénny potenciál a imunita

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

*S. pyogenes* je pôvodcom hnisavých infekcií (akútna faryngitída, šarlach, pyodermie, infekcie rán), invazívnych a toxických ochorení (nekrotizujúca fasciitída, flegmóna, myozitída, myonekróza, syndróm streptokokového toxického šoku) a neskorých následkov streptokokových nákaz (reumatická horúčka, akútna glomerulonefritída, chorea minor).

*S. pyogenes* obsahuje skupinovo špecifický polysacharid bakteriálnej steny, ktorý je základom ich typizácie podľa Lancefieldovej (skupiny A-W). M protein *S. pyogenes* skupiny A je významným faktorom virulencie zabraňujúcim fagocytóze a je základom typovej klasifikácie. (Určité antigénne typy M proteínu vyvolávajú častejšie niektoré typy ochorení - tzv. nefritogénne typy). Kyselina lipoteichoová a F protein sú nástrojmi adhérence baktérie. Antigénna štruktúra povrchových štruktúr streptokokov je podobná s povrchovými štruktúrami hladkej svaloviny, srdcového svalu, spojivového tkaniva a je základom imunopatologických následkov streptokokových infekcií spôsobených *S. pyogenes* na základe skrížene reagujúcich protilátok. Puzdro *S. pyogenes* je tvorené kyselinou hyaluronovou (podobnej štruktúry ako spojivové tkanivo) a je neantigénne, čo umožňuje jeho únik imunitným mechanizmom.

Toxíny – *S. pyogenes* - streptolýzín O – reverzibilne kyslíkom labilný – imunogénny toxín. Vyvoláva tvorbu protilátok (antistreptolýzín O – ASLO). Ich prítomnosť je diagnostickým znakom predchádzajúcej inváznej infekcie spôsobenej *S. pyogenes*.

Streptolýzín S - kyslíkom stabilný neimunogénny hemolýzín, stimuluje uvoľňovanie lyzozómu.

Toxíny enzýmovej povahy podieľajúce sa vzniku tkanivového poškodenia:

- DNA-áza – protilátky proti DNA-áze sú indikátorom kožných streptokokových infekcií a dôkazom streptokokovej etiológie u glomerulonefritídy
- streptokináza – enzým lyzujúci krvnú zrazeninu, zodpovedný za šírenie infekcie v tkanive
- erytrogénny toxín – jeho produkcia je podmienená lyzogénnou konverziou bakteriofága a je príčinou vzniku vyrážky pri šarlachu (poškodenie kapilár).

Zdravý hostiteľ odoláva streptokokom, tieto baktérie obvykle predstavujú superinfikujúce agensy. Puzdro *S. pyogenes* je slabo imunogénne, protilátky proti M proteinu sú dôležité pri obrane proti streptokokom. Protilátky proti niektorým typom M-proteínu skrížene reagujú s antigénmi ľudského tela (antigény keratinocytov – pri psoriáze). Puzdro *S. pneumoniae* je výrazne imunogénne, protilátky sú opsonizujúce a zlepšujú účinnosť fagocytózy).

## 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 a aj po kožných infekciách, ktoré sú vyvolané *S. pyogenes*. Glomerulonefritída vzniká len po kožnej infekcii spôsobenej *S. pyogenes*.



**Obr. 13. Streptokoková faryngitída.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4a/Pos\\_strep.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4a/Pos_strep.JPG)

*S. agalactiae* spôsobuje novorodenecké meningitídy a 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 séra ľudí 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.

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

*E. faecalis* a *E. faecium* sú vyvolávatelmi infekcií močových ciest, endokarditíd a nemocničných nákaz.

Anaeróbne streptokoky sú obvykle príčinou endogénnych genitálnych, abdominálnych a stomatologických infekcií.

Zdravý hostiteľ odoláva streptokokom, tieto baktérie obvykle predstavujú superinfikujúce agens. Puzdro *S. pyogenes* je slabo imunogénne, protilátky proti M-proteínu sú dôležité pri obrane proti streptokokom. Protilátky proti niektorým typom M-

proteínu skrížene reagujú s antigénmi ľudského tela (antigény keratinocytov – pri psoriáze). Puzdro *S. pneumoniae* je výrazne imunogénne, protiláky sú opsonizujúce a zlepšujú účinnosť fagocytózy)

### Laboratórna diagnostika a liečba

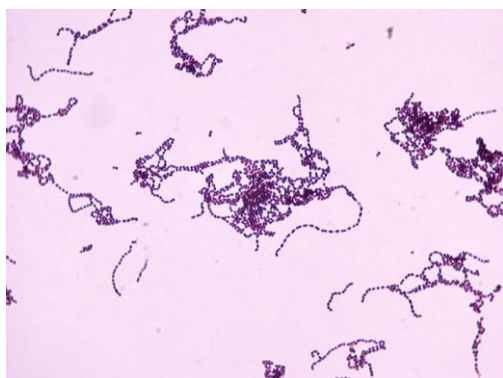
V diagnostike sa používa kultivačný dôkaz, streptokoky dobre rastú na krvnom agare. Dôležité je skupinové určenie streptokokov pomocou laboratórnych testov, neskoré následky streptokokových infekcií sa stanovujú sérologickými metódami (viď úlohy na praktické cvičenia). *S. pyogenes* si udržiava citlivosť 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 jej určenie je potrebný test na stanovenie citlivosti na antibiotiká. Enterokoky sú rezistentné na mnohé antibiotiká. Účinné sú vankomycín a aminoglykozidy vo vyšších koncentráciách. U nozokomiálnych kmeňov sa vyskytuje klinicky závažná rezistencia na vankomycín prenosná plazmidom. Rezistencia na niektoré antibiotiká a chemické látky je súčasťou identifikácie streptokokov (bacitracín, optochín) a enterokokov (ampicilín). Streptokoky sú prirodzene rezistentné na aminoglykosidy, *E. faecalis* na linkomycín.

### Úlohy na praktické cvičenia

#### A. Mikroskopia streptokokov

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

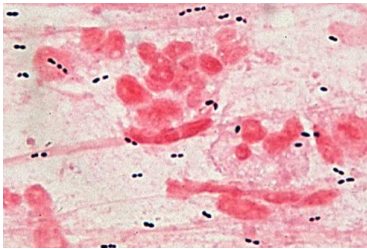
*Streptococcus pyogenes* sú **grampozitívne koky**, majú v priemere 1-2µm, v preparátoch z klinických vzoriek vytvárajú krátke **retiazky**, v preparátoch pripravených z kultúr rastúcich v tekutých médiách sú viditeľné typické dlhé retiazky



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

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

*Streptococcus pneumoniae* sú opuzdrené, **grampozitívne koky**, ich veľkosť je v priemere 0,5 - 1,2µm, 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.

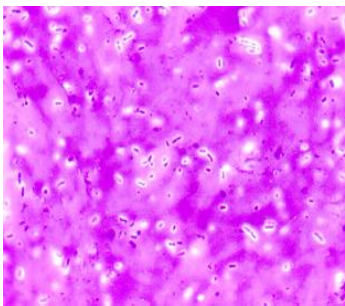


**Obr. 16. *Streptococcus pneumoniae*- farbenie podľa Grama.**

[http://www.oerafrica.org/ftpfolder/website%20materials/health/cases\\_in\\_microbiology/content/pneumo.html](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, v súčasnosti je známych 90 sérotypov. Na mikroskopický dôkaz puzdra je možné použiť **Burriho tušový metódu**. Na tmavom pozadí sa puzdra baktérií javia ako bezfarebné útvary. Vo vnútri nezafarbeného puzdra je možné vidieť kontrastne dofarbené baktérie.

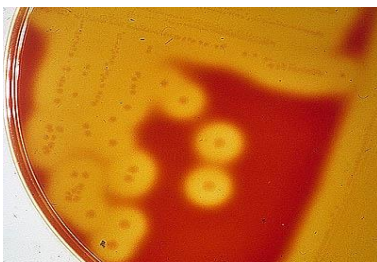


**Obr. 17. Burriho tušová metóda. Bakteriálne puzdra sú nezafarbené (biele).**

### **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  $\alpha$ -hemolytické,  $\beta$ -hemolytické a  $\gamma$ -hemolytické. *S. pyogenes* ( **$\beta$ -hemolytický, skupina A podľa Lancefieldovej**) na krvnom agare po 24-hodinovej kultivácii vytvára malé (1 – 2mm) bledé kolónie obklopené širokou zónou  $\beta$ -hemolýzy (úplná hemolýza). *S. pyogenes* produkuje mnoho toxínov, niektoré z nich sú schopné lyzovať alebo zničiť erytrocyty. Výsledok sa prejaví presvetlenou zónou okolo bakteriálnych kolónií. Táto úplná deštrukcia erytrocytov na agarovom médiu sa nazýva  $\beta$ -hemolýza.



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

[http://textbookofbacteriology.net/pathogenesis\\_4.html](http://textbookofbacteriology.net/pathogenesis_4.html)



*S. agalactiae* ( $\beta$ -hemolytický, skupina B podľa Lancefieldovej) kolónie na krvnom sú väčšie, obklopené úzkou zónou  $\beta$ -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* ( $\alpha$ -hemolytický) vytvára na krvnom agare veľmi drobné kolónie obklopené úzkou zónou neúplnej hemolýzy ( $\alpha$ -hemolýza, viridácia). Kolónie môžu byť preliačené s centrálnou vyvýšeninou.



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

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

*S. salivarius* ( $\alpha$ -hemolytický) rastie na krvnom agare v malých kolóniách, vytvára  $\alpha$ -hemolýzu (viridáciu).



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

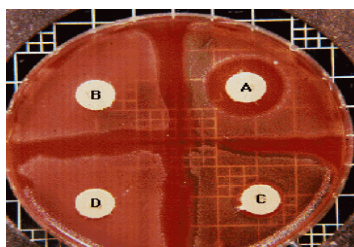
### C. Fyziologické vlastnosti streptokokov

Identifikácia  $\beta$ -hemolytického streptokoka skupiny A (*S. pyogenes*).

#### BACITRACÍN OVÝ TEST

Jedným zo spôsobov, ako odlíšiť  $\beta$ -hemolytického streptokoka skupiny A (HSA) od ostatných  $\beta$ -hemolytických streptokokov je na základe určenia ich rozdielnej citlivosti na bacitracín. *Streptococcus pyogenes* (skupina A,  $\beta$ -hemolytický) je citlivý na bacitracín a nerastie okolo disku obsahujúceho antibiotikum (viditeľná zóna inhibície

rastu). Ostatné  $\beta$ -hemolytické streptokoky nie sú citlivé na bacitracín a rastú v blízkosti disku obsahujúceho bacitracín.



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

[http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol\\_4684/Microbes/ENTERO.html](http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Microbes/ENTERO.html)

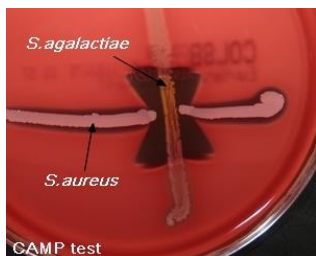
### Identifikácia $\beta$ -hemolytického streptokoka skupiny B (*S. agalactiae*)

#### CAMP TEST

*S. agalactiae* ( $\beta$ -hemolytický streptokok skupiny B, HSB) je možné identifikovať na základe  $\beta$ -hemolýzy, hydrolýzy hipurátu a CAMP testu. CAMP je skratka mien štyroch výskumníkov, ktorí popísali tento test (Christie, Atkins, Munch-Petersen). Streptokok skupiny B tvorí faktor (CAMP faktor), ktorý zosilňuje  $\beta$ -hemolýzu indikátorového kmeňa *Staphylococcus aureus*. Na krvný agar sa naočkuje laboratórny kmeň *S. aureus* a kolmo na stafylokokovú čiaru sa nočkuje vyšetrovaný kmeň  $\beta$ -hemolytického streptokoka (inkubácia 24 hodín). ***Streptococcus agalactiae* (HSB), ktorý vytvára CAMP faktor zosilňuje hemolýzu erytrocytov ovplyvnených C sfingomyelinázou ( $\beta$ -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 – *Streptococcus agalactiae*
- negatívne – *Streptococcus pyogenes*



**Obr. 23. CAMP test. Pozitívny výsledok - viditeľné zosilnenie  $\beta$ -hemolýzy.**

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

### Identifikácia *S. pneumoniae*

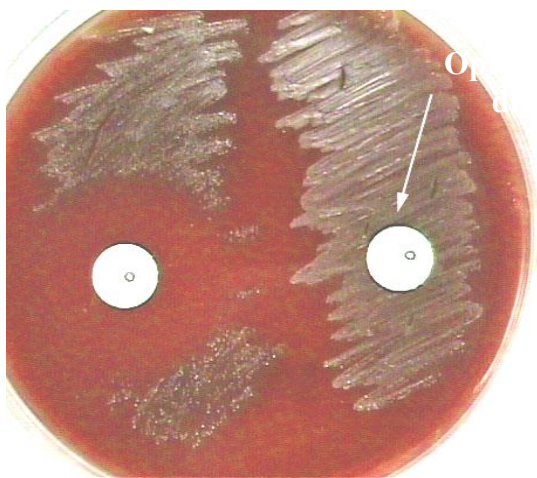
Je ťažké odlíšiť normálne fyziologické alfa-hemolytické streptokoky (nachádzajúce sa v ústach) od patogénneho organizmu *Streptococcus pneumoniae*. Obidva sú alfa-

hemolytické na krvnom agare, a preto sa musia odlišiť „P“ diskom (optochínom). *S. pneumoniae* je citlivý zatiaľ čo *S. salivarius* je rezistentný.

### OPTOCHÍNOVÝ TEST

Optochín (etylhydrocupreín hydrochlorid) je chinínový derivát, ktorý má detergentné účinky a zapríčiňuje selektívnu lýzu pneumokokov.

Optochínový test – test na krvnom agare. Na celú plochu pôdy naočkujeme vyšetrovaný kmeň a pridáme sterilný disk impregnovaný optochínom. Po 18 hodinách kultivácie hodnotíme veľkosť zábrany rastu. Pozitívny dôkaz pneumokoka sa prejaví zónou zábrany rastu aspoň 16 mm.



**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>

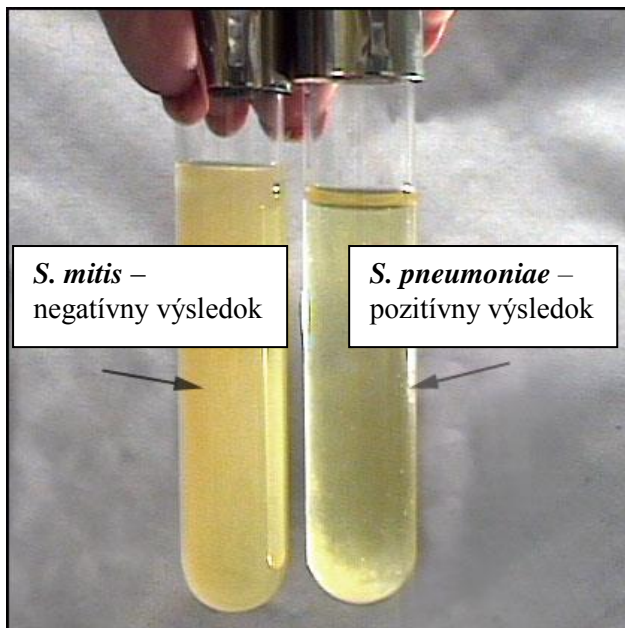
### TEST ROZPUSTNOSTI V ŽLČI

Test rozpustnosti v žlči je založený na zistení, že bunky kmeňa *Streptococcus pneumoniae* lyzujú pôsobením 10-percentného roztoku deoxycholátu sodného, zatiaľ čo ostatné grampozitívne koky v žlči nie sú rozpustné.

Lýza vzniká preto, lebo mikroorganizmy rozpustné v žlči obsahujú autolytickú amidázu, ktorá po aktivácii žľčovými soľami rozštípe väzbu medzi alanínom a kyselinou muramovou v bunkovej stene. Deoxycholát sodný je soľ purifikovanej žľchovej kyseliny a môže sa použiť v nižšej koncentrácii ako ostatné soli žľčových kyselín. Je rozpustný vo vode a jeho 10% -ný roztok lyzuje bunky pneumokokov. Test rozpustnosti v žlči sa môže vykonávať pridaním roztoku deoxycholátu sodného do suspenzie buniek alebo priamo do kolónie v miske s krvným agarom.

Test je pozitívny, ak je obsah v skúmavke s testovaným kmeňom priesvitný alebo menej zakalený ako obsah kontrolnej skúmavky.

Výsledok je negatívny, ak je obsah testovacej a kontrolnej skúmavky rovnaký.



**Obr. 25. Test rozpustnosti v žli.**

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

#### **D. Sérologický dôkaz – ASLO, CRP**

##### **ANTISTREPTOLYZÍN O (ASLO)**

Streptolysin O je hemolysin, extracelulárny faktor virulencie, ktorý produkuje beta-hemolytický *Streptococcus pyogenes*. Streptolysin O je oxygénlabilný a toxický pre leukocyty a monocyty. Protilátky proti nemu (**ASLO**) slúžia k retrospektívnej diagnóze nedávno prebehnutkej streptokokovej infekcii alebo pri podozrení na hroziace neskoré následky. Protilátky sa v tele tvoria asi týždeň až mesiac po zistení streptokokovej infekcie. 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 klbov. Priemerné hodnoty u zdravých ľudí nepresahujú u dospelých 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 dvoch sér odobratých s vhodným časovým odstupom.

##### **C-REAKTÍVNY PROTEÍN (CRP)**

CRP bol prvýkrát identifikovaný v sérach pacientov ako substancia reagujúca s C-polysacharidom pneumokokov (odtiaľ pochádza pomenovanie C-reaktívny proteín). CRP patrí do skupiny tzv. pentraxínov. Molekula CRP sa skladá z piatich, polypeptidových jednotiek, ktoré majú jedno väzbové miesto pre fosfocholínovú molekulu a dve väzbové miesta pre vápnik.

Hlavným biologickým účinkom CRP je jeho schopnosť viazať fosfocholín a prostredníctvom tejto väzby rozpoznávať cudzie patogény a fosfolipidové súčasti poškodených buniek. Z imunologického hľadiska **CRP pôsobí 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 neutrofily, makrofágy a ostatné fagocytujúce bunky a stimulujú zápalovú odpoveď, ako aj tvorbu cytokínov. **CRP je zložkou vrodenej imunitnej odpovede, je syntetizovaný v pečeni.**

Zvýšené CRP spoľahlivo signalizuje, že v organizme prebieha chorobný zápalový proces, ale zistenie vyvolávajúcej príčiny zápalu si vyžaduje ďalšie klinické a paraklinické vyšetrenia, ktoré definitívne upresnia základnú diagnózu. V pediatrii 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 baktériovú 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, aglutinácia).**

## 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 agar.
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*

### nepatogénne neissérie

#### Charakteristika

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



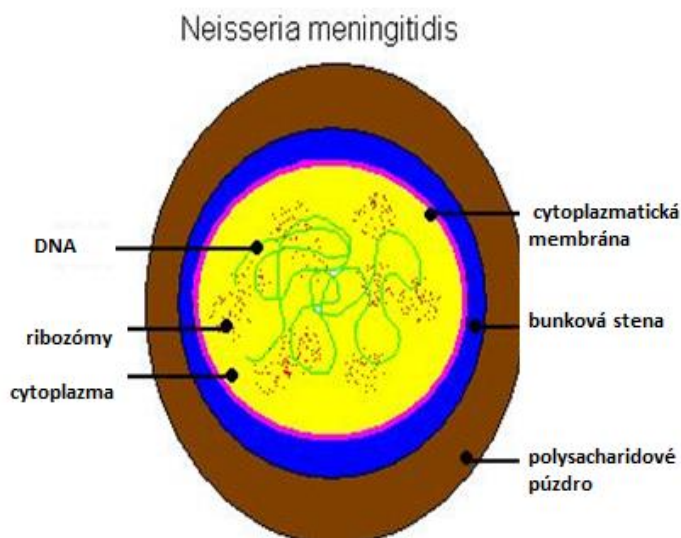
**Obr. 27. Typické usporiadanie neissérií.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2d/Neisseria\\_meningitidis\\_%28cropped%29.png](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 poškodzujúce epiteliálne bunky vajcovodov a extracelulárne proteázy viažuce 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.





**Obr. 28. 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 HCD sú dôležité fimbrie. Lipopolysacharidový endotoxín je extrémne toxický, spôsobuje poruchu syntézy chemotaktických faktorov v polymorfonukleárných leukocytoch. Biologické účinky endotoxínu sa prejavujú veľmi rýchlo v priebehu infekcie a často sú príčinou perakútneho priebehu – hyperprodukcia membránových fragmentov v rastúcich a množiacich sa bunkách, rozpad baktérií účinkom imunitného systému. *N. gonorrhoeae* stimuluje lokálnu imunitu (sekrečné Ig môžu podporovať účinnosť PMNL). Nekomplikované infekcie aktivizujú komplement prostredníctvom klasickej cesty, diseminovaná infekcia aktivizuje komplement alternatívnou cestou. Lokálne protilátky sú špecifické proti antigénom fimbrií kmeňa. Možnosť reinfekcie inými antigénnymi kmeňmi. *N. meningitidis* - antikapsulárne protilátky sú baktericídne, protektívne a typovo špecifické. Proti typu B sú neprotektívne, sérotypové. Polysacharidové púzdro je T-nezávislý antigén podmieňujúci vekové rozdelenie (výskyt 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, profylakticky sa používa očná aplikácia ATB alebo 1% AgNO<sub>3</sub> novorodencom, prípadne antibiotické kvapky.



**Obr. 29. Gonokoková ophthalmia neonatorum.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/27/Gonococcal\\_ophthalmia\\_neonatorum.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/27/Gonococcal_ophthalmia_neonatorum.jpg)

**Meningitída** začína obvykle náhle s bolesťou hlavy a horúčkou, rýchle 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.

#### **Laboratórna diagnostika a liečba**

*N. gonorrhoeae* sa diagnostikuje na základe mikroskopie vaginálneho výteru s nálezom gramnegatívnych diplokokov, epitélií a polymorfonukleárných leukocytov. Kultivácia – výter z vagíny - inokulovaný na modifikovanom krvnom agare alebo čokoládovom agare s prítomnosťou ATB (Thayer Martin) na potlačenie sprievodnej flóry. Rastie v šedavých kolóniách (pripomínajúcich kvapky rosy), ktoré po zakvapnutí činidlom na detekciu cytochromoxidázy sčernajú. Odlíšenie od ostatných – nepatogénnych neissérií je možné na základe biochemických testov.



**Obr. 30. Gramnegatívne diplokoky umiestnené voľne aj v prítomných polymorfonukleárných leukocytoch.**

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

*N. meningitidis* - mikroskopia likvoru – gramnegatívne diplokoky umiestnené voľne aj v prítomných polymorfonukleárných leukocytoch. Vzhľadom na akútny priebeh je dôležitá možnosť dôkazu voľných antigénov latexovou aglutináciou v likvore a v moči, prípadne mikroskopia a kultivácia z petechií. Kultivácia sa robí z likvoru a krvi, baktérie sú kultivačne veľmi náročné, rastú na krvnom a čokoládovom agare v atmosfére s 5-10% CO<sub>2</sub>. Odlíšenie od nepatogénnych neissérií pri vyhľadávaní nosičov na základe biochemických vlastností. Skupinová typizácia sa uskutočňuje v špecializovanom laboratóriu ELISA metódou.

*N. gonorrhoeae* je citlivá na PNC, cefalosporíny. Produkuje betalaktamázu. Účinný je tetracyklín, chinolóny a novšie makrolidy. *N. meningitidis* je citlivá na PNC, (rezistenciu môže spôsobiť genetická zmena PBP), chloramfenikol, cefalosporíny. 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 2).

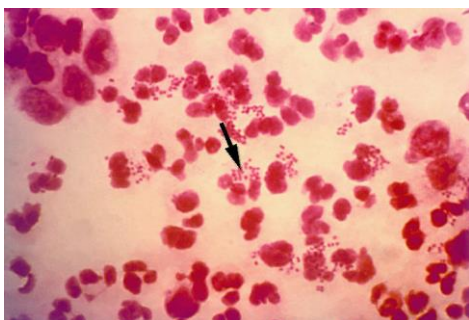
## Úlohy na praktické cvičenia

### 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 polymorfonukleárných leukocytoch a menej extracelulárne.



**Obr. 31. *N. gonorrhoeae* – preparát z klinického materiálu, farbenie podľa Grama.**

[http://textbookofbacteriology.net/pathogenesis\\_3.html](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).

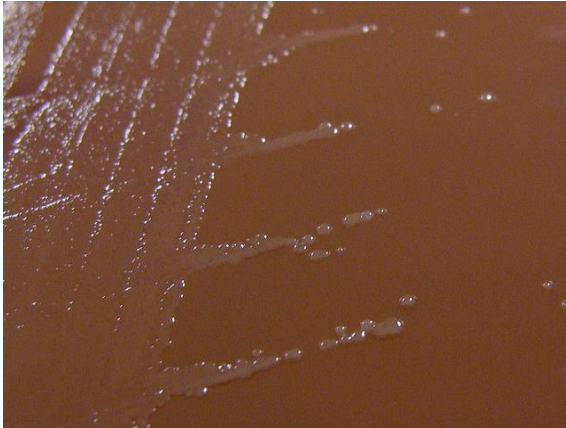
### C. Cytochromoxidázový test (oxidázový test)

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

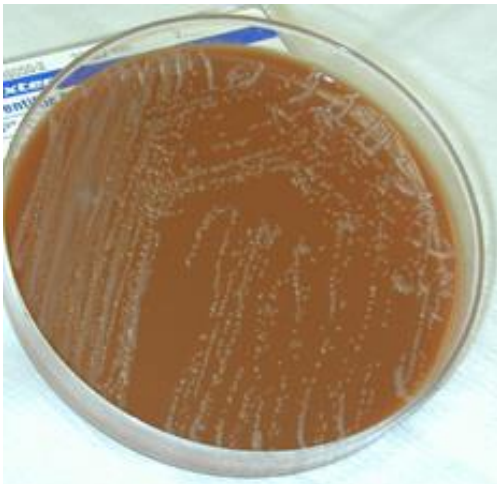
nanesú na prúžok filtračného papiera napusteného činidlom, v mieste nánosu sa objaví tmavofialová farba.

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

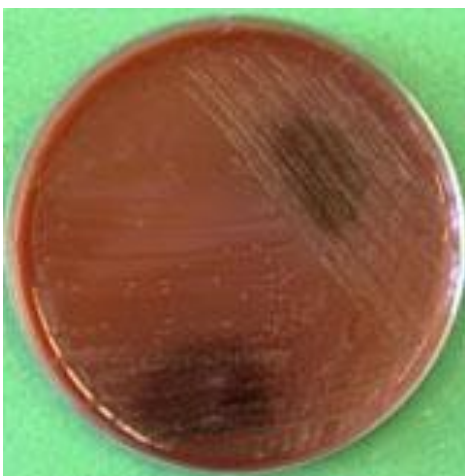


**Obr. 32. *N. gonorrhoeae* na čokoládovom agare. Drobné kolónie, pripomínajúce tvarom kvapky rosy.**

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



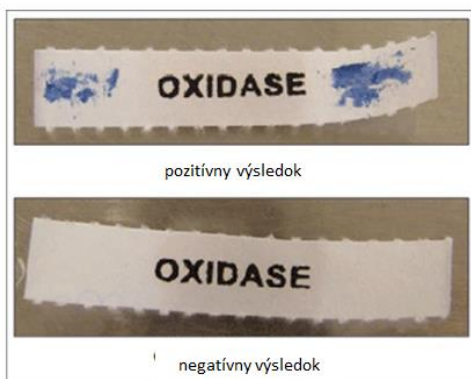
**Obr. 33. *N. meningitidis* na čokoládovom agare.**



**Obr. 34. Oxidázová reakcia – sčernenie kolónií *N. meningitidis* po pridaní činidla.**

[http://bluegrass.kctcs.edu/en/Natural\\_Sciences/Biology/Virtual\\_Labs/Virtual\\_Lab\\_4.aspx](http://bluegrass.kctcs.edu/en/Natural_Sciences/Biology/Virtual_Labs/Virtual_Lab_4.aspx)



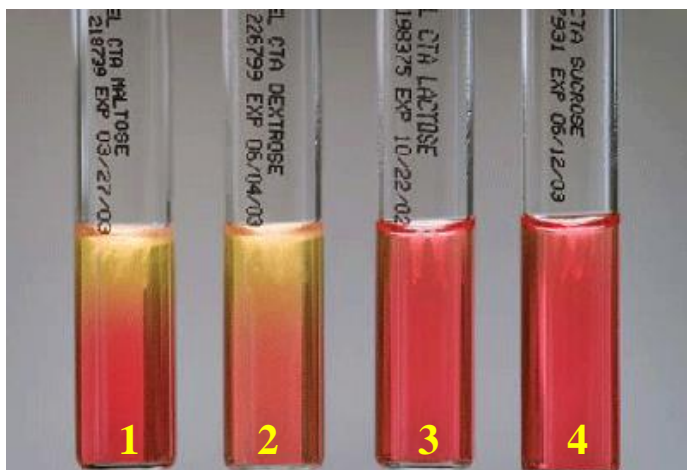


**Obr. 35. Oxidázová reakcia – pozitívny a negatívny výsledok. Pozitívny výsledok sa prejaví vznikom fialovej farby po nanesení vyšetřovaných baktérií.**

<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 červeň (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. 36. *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.



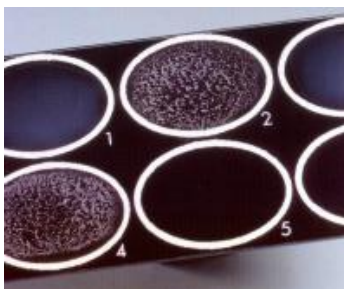
**Obr. 37. Cerebrospinálny mok pri meningokokovej meningitíde.**

[http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/theacher/infections/infec\\_kochar/English/Recommendations%20for%20preparing%20practical%20classes/Herpetic%20disease,meningococcal%20disease,%20sepsis.htm](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. 38. Latexová aglutinácia.**

### ***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.

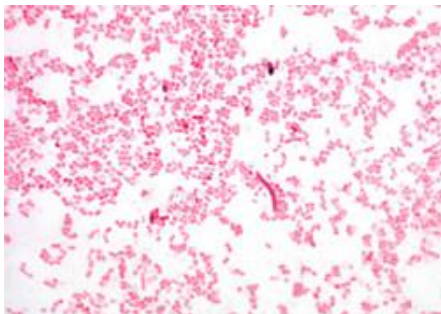
#### **Ochorenia**

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. 39. *Moraxella catarrhalis*.**

[http://bmtjournal.blogspot.sk/2007\\_12\\_01\\_archive.html](http://bmtjournal.blogspot.sk/2007_12_01_archive.html)

### 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 záchytnosť 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.

## 1.3 Grampozitívne sporulujúce paličky

**Rod:** *Bacillus*

**druh:** *anthracis*  
*cereus*  
*subtilis*

**Charakteristika:** Existuje viacero druhov rodu *Bacillus*. *B. anthracis* spôsobuje prevažne ochorenie zvierat. Postihnutie zvierat antraxom bolo pravdepodobne jedným zo 7 biblických rán zoslaných na Egypt. 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

(bacillus Calmet-Guerin) a používal sa aj ako synonymum pre patogénne mikroorganizmy (chrípkový bacil).



**Obr. 40. *Bacillus anthracis* – grampozitívne paličky.**

[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Bacillus\\_anthraxis\\_Gram.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Bacillus_anthraxis_Gram.jpg)

### Patogénny potenciál a imunita

*B. anthracis* vyvoláva ochorenie zvierat a ľudí len v prípade, že produkuje púzdro a exotoxíny. Ochorenie začína kontaktom, ingesciou alebo inhaláciou spór, ktoré v organizme germinujú a produkujú toxíny. Interhumánny prenos je nepravdepodobný. *B. cereus* vyvoláva intoxikáciu z potravín. Ostatné bacily neprodukujú toxíny, ale antibakteriálne látky (bacitracín, *B. polymyxa* – polymyxin) a sú podmienene patogénne. Púzdro *Bacillus anthracis* je proteínové, menej imunogénne a nepôsobí tak výrazne antifagocytárne ako polysacharidové púzdro. Exotoxíny sú nástrojom virulencie: protektívny antigénny toxín, edémový faktor, letálny faktor (adenylcykláza). Kombinácia toxínov je dôležitá pre vznik ochorenia. Vždy musí byť prítomný letálny faktor. Toxíny sú imunogénne – ochranu zabezpečí prítomnosť protilátok, ale protilátky proti protektívnemu antigénu sú nevyhnutné na zabezpečenie účinnej ochrany.

*B. cereus* - nástrojom patogenity je imunogénny enterotoxín spôsobujúci hnačku (termolabilný toxín) a zvracanie (termostabilný toxín), u panoftalmitídy toxíny enzýmovej povahy (cereolysín, nekrotický toxín, fosfolipáza C) zodpovedajú za tkanivové poškodenie.

### Ochorenia

Bacily sú celosvetovo prítomné saprofyty pôdy vo forme spór, ktoré prežívajú roky aj v tvrdých klimatických podmienkach. Ľudské ochorenie - antrax - sa vyskytuje ako profesionálna nákaza pri kontakte s infikovaným zvierat'om alebo jeho produktami (vlna, koža). Sporadicky sa vyskytuje antrax zvierat po splavení spór v pôde do oblastí pastvín dobytku pri záplavách (Slovensko 2010). Prepuknutie intoxikácie spôsobenej *B. cereus* je obvykle sporadické. Typické bolo lokálne nahromadenie prípadov intoxikácie po požití praženej ryže v reštauráciách.



**Obr. 41. Kolónie *B. anthracis* na krvnom agare.**

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

*B. cereus* vyvoláva **intoxikáciu z potravín** po ingescii preformovaných 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. 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.

*B. anthracis*:

Podľa cesty prenosu existujú 3 typy ochorenia u ľudí:

- **kožný antrax**, čierny vred, vyvíjajúci sa po kontakte so spórmi (inokulácia) alebo po pohryzení. Je to najčastejšia forma. Šírenie baktérie do krvi, lymfatických uzlín a následnej toxickkej septikémie s letálnym koncom je častejšie po chirurgickom zákroku (spontánne vzniká septická forma u 5% infikovaných)
- **inhalačný antrax** – inhalované spóry sú pohltené makrofágmi, ktoré ich transportujú do regionálnych lymfatických uzlín, ktoré nekrotizujú a krvácajú. Táto forma je letálna v 90%
- **gastrointestinálny antrax** – vzniká ingesciou kontaminovaného mäsa, prejaví sa ako nekrotizujúca enterokolitída s následnou septikémiou a letalitou viac ako 50%



**Obr. 42. Kožný antrax.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Anthrax\\_PHIL\\_2033.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Anthrax_PHIL_2033.png)

### Laboratórna diagnostika a liečba

*B. anthracis* v mikroskopickom preparáte vytvára útvary popisované ako „caput medusae“. Spóry identifikujeme len in vitro – nikdy nie v biologickom materiáli. Mikroskopicky sa spóry znázorňujú špeciálnym farbením (Wirtz-Conklin), pri Gramovom farbení sa znázorňujú ako prázdne miesta v tele baktérie. Morfológicky nerozširujú telo 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). *B. cereus* rastie na krvnom agare v typických matných veľkých suchých kolóniách so širokou zónou beta hemolýzy. *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. Chemoprevenia antibiotikami nie je účinná. Existuje viacero zvieracích vakcín na imunizáciu proti antraxu. Humánne vakcíny sú rôznej imunogenicity. Ich použitie je prísne indikované a vzhľadom na charakteristiku baktérie a patogenézu ochorenia nie sú vhodné na použitie po bioteroristickom útoku. Ochrana pred intoxikáciou spôsobenou *B. cereus* je možná dostatočným schladením potravín po tepelnej príprave pred podávaním. *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* je dobre citlivý na klindamycín a gentamycín, 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 useknutými koncami, vytvárajú dlhé reťaze paličiek s centrálnymi uloženými 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.

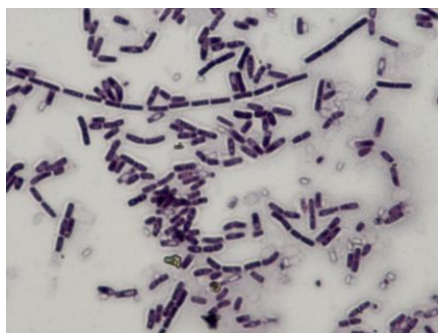


Obr. 43. *B. anthracis* – farbenie podľa Grama.

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

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

*B. cereus* je mohutná grampozitívna palička bez puzdra.



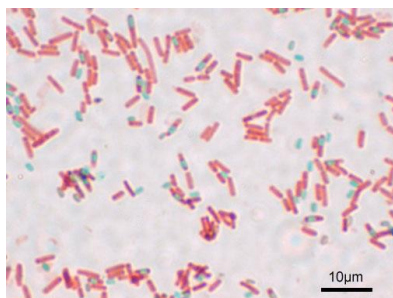
Obr. 44. *B. cereus* – farbenie podľa Grama.

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

Zafarbite fixovaný preparát z kultúry *B. subtilis* 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 do výstupu pár 3-6 minút, opláchnie pod tečúcou vodou. 0,5% vodný roztok safranínu sa použije na dofarbenie (30 sekúnd). Preparát sa opláchneme tečúcou vodou, vysuší a mikroskopuje (imerzia, objektív 100x). Príslušníci

rodu *Bacillus* majú centrálne uložené spóry, ktoré nedeformujú telo pôvodnej vegetatívnej bakteriálnej bunky.



**Obr. 45. *B. subtilis* – farbenie podľa Wirtz-Conklina.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7a/Bacillus\\_subtilis\\_Spore.jpg](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. Tvar kolónií sa prirovnáva k hlave medúzy. Hemolýza nie je prítomná.

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



**Obr. 46. *B. cereus* na krvnom agare.**

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

### **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

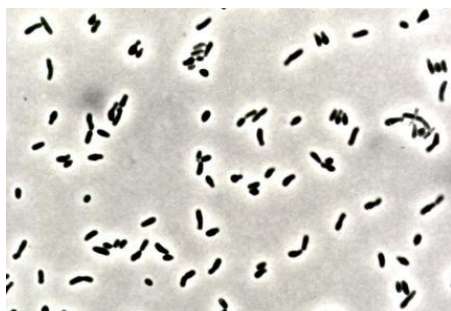
### Korynebaktérie

Rod: *Corynebacterium*

druh: *diphtheriae*  
*pseudodiphtheriticum*  
*urealyticum*  
*pseudotuberculosis*  
*ulcerans*  
*jeikeium* (JK)

### Charakteristika

Korynebaktérie sú grampozitívne pleiomorfné paličky (môžu byť gram-variabilné), majú kyjakovitý tvar a charakteristické usporiadanie viditeľné v mikroskopickom preparáte (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). Metachromatický znamená, že výsledná farba granúl je iná ako použitá farbička a je zapríčinená chemickou reakciou fosfátov a použitého farbiaceho roztoku.



Obr. 47. *Corynebacterium glutamicum* – kyjakovito zhrubnuté paličky.

[http://microbewiki.kenyon.edu/images/b/bc/Corynebacterium\\_glutamicum.jpg](http://microbewiki.kenyon.edu/images/b/bc/Corynebacterium_glutamicum.jpg)

### 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 toxínogénne kmene – kmene schopné produkovať difterický exotoxín. Toxigenicita je prenášaná z toxigénneho na netoxigénny kmeň prostredníctvom bakteriofága (lyzogénna konverzia). Difterický toxín je AB toxín - obsahuje jedínú 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 diféria). 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. diphteriae* vyvoláva záškrt. Lokalizovaná diftéria, diftéria postihujúca tonzily, diftéria postihujúca hltan sa prejaví náhlou nevoľnosťou, bolesťami hrdla a bolesťami pri prehltaní, zriedkavo zvracanie. 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 ohraničenými okrajmi.**

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

### Laboratórna diagnostika a liečba

Claubergova pôda obsahujúca teluričitan je diagnostická a selektívna pre zachytenie korynebaktérií. *C. diphteriae* 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. diphteriae* 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

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.

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* (diftéria) 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 katetre zvyšujú riziko vzniku ochorenia (okolo 40% hospitalizovaných pacientov môže mať kožu kolonizovanú týmito korynebaktériami).

Terapia infekcií je problematická, pretože mnoho kmeňov *Corynebacterium sp.* 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.

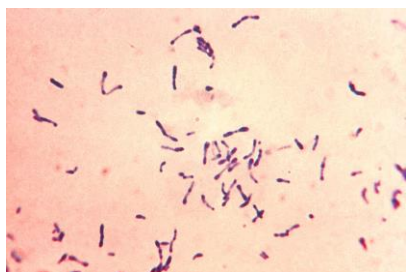
*Tropheryma whippelii* – vyvoláva Whippleovu chorobu (artralgia, hnačka, bolesť brucha, strata hmotnosti, lymfadenopatia a zvýšená pigmentácia kože). Diagnostika je problematická, pretože kultivácia je obvykle negatívna (na potvrdenie diagnózy sa využíva PCR).

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.



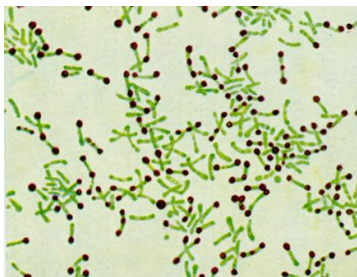
**Obr. 50. *C. diphtheriae* – farbenie podľa Grama.**

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

*C. diphtheriae* v mikroskopickom obraze sú viditeľné 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>

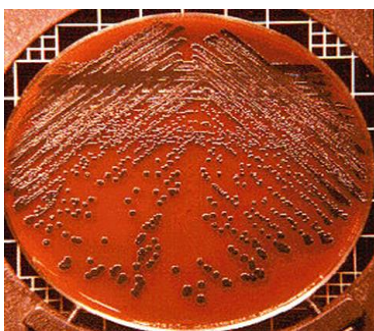
#### **B. Kultivácia *C. diphtheriae* a *C. pseudodiphtheriticum***

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

*C. diphtheriae* 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. pseudodiphtheriticum* vytvára biele, hladké matné kolónie bez hemolýzy.

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

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



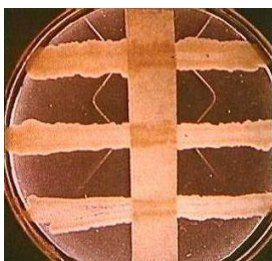
**Obr. 52. *C. diphtheriae* – kultivácia na pôde so soľami telúru.**

<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/>

**Rod:** *Listeria*

**druh:** *monocytogenes*

#### Charakteristika

Grampozitívna, fakultatívne anaeróbna palička, obsahuje lipopolysacharid (LPS, endotoxínová aktivita), nesporulujúca, kataláza-pozitívna, na krvnom agare vytvára  $\beta$ -hemolýzu. Pohyblivá je pri nižších teplotách (20°C).

#### Patogénny potenciál a imunita

Je fakultatívne intracelulárnym patogénom. 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 fagolizozómov dochádza k produkcii cytolyzínu (listeriolysín O) a fosfolipázy C, ktoré zabezpečia uvoľnenie baktérií do cytoplazmy, kde prebieha množenie. Humorálna imunita nezohráva významnú úlohu obrane, kontrolu infekcie zabezpečuje bunková imunita.

#### Ochorenia

Listérie infikujú obvykle imunosuprimovaných pacientov, u ktorých spôsobuje meningitídu, alebo sepsu. Baktéria môže kolonizovať genitálny trakt žien a vyvolať perinatálnu infekciu novorodenca – novorodenckú meningitídu. Pri primoinfekcii tehotnej ženy môže dôjsť k intrauterinnej infekcii plodu a jeho odumretiu, alebo sa plod rodí s výrazným poškodením – 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

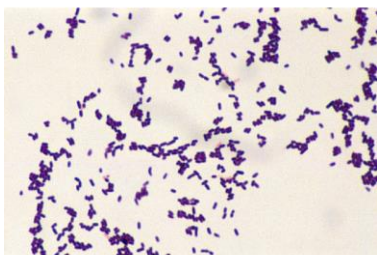
Diagnóza sa stanovuje na základe kultivácie na krvnom agare s chladovým obohatením a dôkazom pohyblivosti pri kultivácii pri izbovej teplote. Liekom voľby je ampicilín.

## 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 majú často kokobacilový tvar.

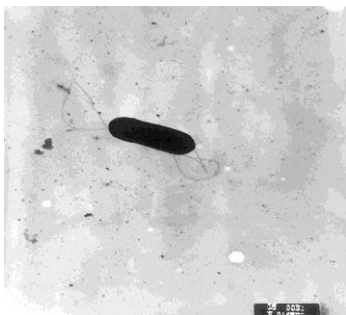


Obr. 55. *L. monocytogenes* – farbenie podľa Grama.

<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 bičíky). Pohyblivosť je rozlišovacím znakom listérií.



Obr. 56. Bičíky - *L. monocytogenes*.

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/74/Listeria\\_monocytogenes\\_PHIL\\_2287\\_lores.jpg](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, sivasté hladké kolónie, virulentné kmene tvoria úzku  $\beta$ -hemolýzu, ktorá je často viditeľná až po zotretí kolónie.





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

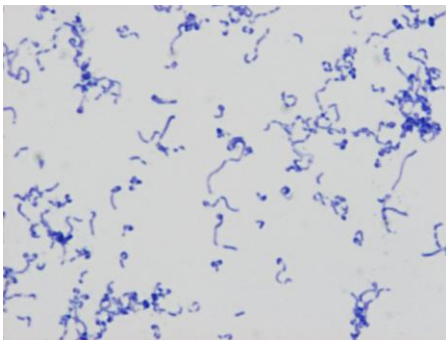
[http://fundacionio.org/img/bacteriology/img/Listeria\\_monocytogenes\\_01.JPG](http://fundacionio.org/img/bacteriology/img/Listeria_monocytogenes_01.JPG)

**Rod:** *Erisipelothrix*

**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. *Erisipelothrix rhusiopathiae* – farbenie podľa Grama.**

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

### 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 odlíšenie 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.

## OTÁZKY

1. Ktoré všeobecné vlastnosti majú korynebaktérie?
2. Aká je patogenéza a klinické prejavy záškrtu?
3. Aký materiál sa odoberá pri podozrení na záškrt?
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 záškrtom 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. rhusiopathiae* 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 sporujúce paličky

### Klostrídiá

Rod: *Clostridium*

druh: *perfringens*  
*tetani*  
*botulinum*  
*difficile*

### Charakteristika:

Príslušníci rodu *Clostridium* sú primárne alebo podmienene patogénne mikroorganizmy. Niektoré z nich spôsobujú smrteľné ochorenia spôsobené toxínmi – (tetanus, botulizmus, plynová gangréna), intoxikáciu z potravín alebo pseudomembranóznu kolitídu. Klostrídiá sú grampozitívne paličkovité sporujúce baktérie, striktné 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. Nachádza sa často 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.

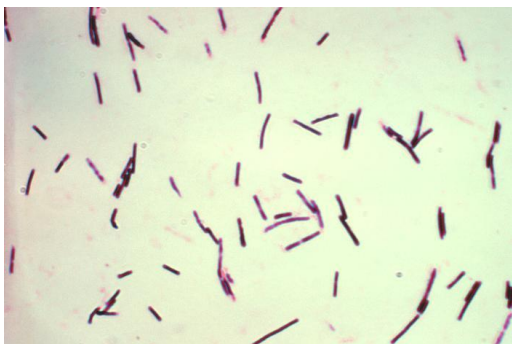
**Beta toxín** poškodzuje črevo, vyvoláva tvorbu nekróz až vznik nekrotizujúcej enteritídy.

**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).

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



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

[http://microbewiki.kenyon.edu/images/5/5e/Clostridium\\_perfringens.jpg](http://microbewiki.kenyon.edu/images/5/5e/Clostridium_perfringens.jpg)

## Ochorenia

Klostrídiá anaeróbných traumatóz sú veľmi agresívne mikroorganizmy spôsobujúce rýchlo sa šíriace anaeróbne traumatózy 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>

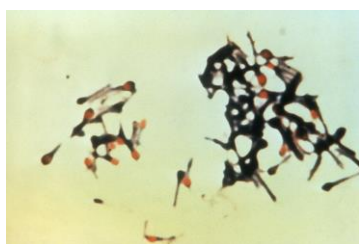
### Laboratórna diagnostika a liečba

Vyžaduje sa 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 si vyžaduje radikálne chirurgické odstránenie nekrotických tkanív a podávanie antibiotík (vysoké dávky penicilínu). Profylakticky a terapeuticky je možné podať špecifické antisérum, možno využiť aj oxygénerapiu. Klostrídiami vyvolané otravy z jedla si obvykle nevyžadujú podávanie antibiotík, ochorenie je zvyčajne samolimitujúce.

### *Clostridium tetani*

#### Patogénny potenciál a imunita

Je to grampozitívna sporulujúca palička. Spóry sú uložené terminálne (v mikroskopickom preparáte vytvárajú obraz rakety na squash).



**Obr. 62. *C. tetani*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c7/Clostridium\\_tetani\\_01.png](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 hemolyzín 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 sporulujú. 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** (trizmus žuvacích svalov, sardonický úsmev, opisthotonus 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 kýtľa.



**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 obvykle na ARO. Na aktívnu imunizáciu sa používa anatoxín.



**Obr. 64. Opisthotonus.**

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

### ***Clostridium botulinum***

#### **Patogénny potenciál a imunita**

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 trasdukciou genetickej informácie pri infekcii mikroorganizmu bakteriofágom (lyzogénna konverzia). Proteínové exotoxíny sú produkované v neaktívnej forme, obvykle exogénne, a aktivujú sa proteolytickými enzýmami v tráviacom trakte po prijatí toxínu v potrave. Botulotoxín na nervovosvalových spojeniach inaktívuje 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](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).



**Obr. 66. Detský botulizmus.**

[http://bepast.org/docs/photos/botulinum/infant\\_botulism.jpg](http://bepast.org/docs/photos/botulinum/infant_botulism.jpg)

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

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

### **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. Zničenie spór v potrave je technicky náročné, najlepšou prevenciou je zabrániť kontaminácii jedla spórmi.

### ***Clostridium difficile***



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

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

### **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, vyvoláva deštrukciu buniek.

### **Ochorenia**

*C. difficile* je súčasťou fyziologickej flóry človeka (kolonizuje črevo u asi 5% zdravých ľudí). Je podmienenečne patogénnym mikroorganizmom uplatňujúcim sa pri dysmikróbii



navodenej širokospektrálnymi ATB s jeho následným premnožením v čreve. Ochorenie sa vyskytuje často v nemocniciach a u pacientov v terminálnych štádiách rôznych ochorení. *C. difficile* vyvoláva hnačky, u pacientov liečených širokospektrálnymi antibiotikami sa môže vyvinúť pseudomembranózna kolitída.

### 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, neutralizácia) je možné použiť na stanovenie rizika vzniku pseudomembranózneho kolitídy. Uchovanie prirodzenej mikrobioty v čreve (eumikrobiota) je podmienkou úspešnosti nešpecifickej imunity v boji proti vzniku pseudomembranózneho kolitídy.

Grampozitívne sporujúce paličky sú dobre citlivé na penicilín alebo chloramfenikol, u pseudomembranózneho 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 systéme pri teplote 4°C. Doba prežívania anaeróbných 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 ATB (vysoko naliate pôdy, obsahujú redukujúce látky, znižujúce oxidačno-redukčný potenciál pôdy). Anaeróby rastú pri záporných hodnotách redox potenciálu, keď v prostredí prevládajú redukované látky. VL agar obsahuje nutričné zložky - mäsový extrakt a peptón. Kvasničný autolyzát a L-cystein poskytujú potrebný aminodusík, rastový uhlík pre metabolizmus baktérií. Kvasničný autolyzát 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 O<sub>2</sub>.



**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, vyvíjač CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>, katalyzátor, indikátor 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 – odsatie vzduchu a jeho nahradenie dusíkom, CO<sub>2</sub>, 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](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)

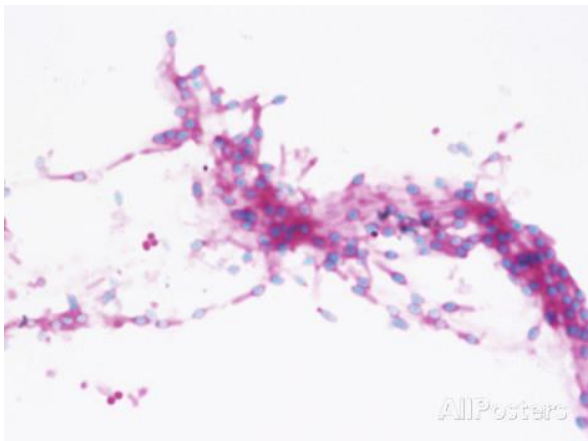
## **B. Mikroskopia *C. tetani***

**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 karbolfuchsínom (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](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, 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*

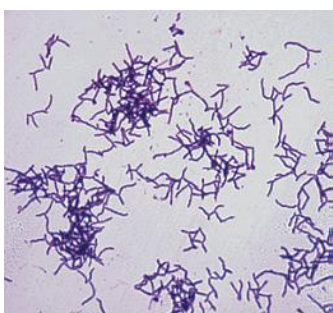
*Lactobacillus*

*Propionibacterium*

#### *Actinomyces*

##### 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*.



Obr. 74. *Actinomyces israeli*.

[http://www.textbookofbacteriology.net/normalflora\\_5.html](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 granulá (pre charakteristické zafarbenie sú označované ako **sírové granulá**).



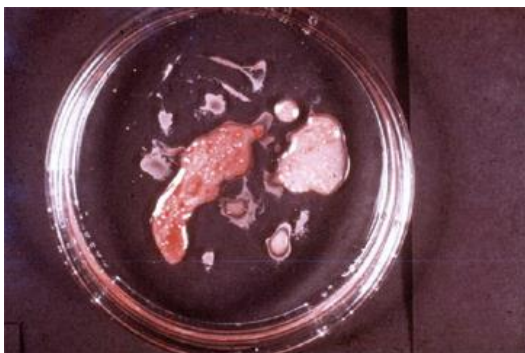
Obr. 75. Mycetóm.

<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.



**Obr. 76. Sírové granulá pri aktinomykóze.**

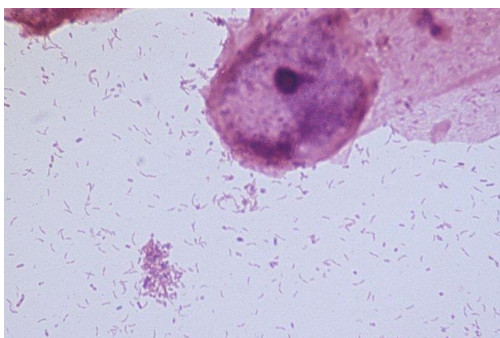
<http://pathmicro.med.sc.edu/mycology/sulphur-granules.gif>

### **Laboratórna diagnostika a liečba**

Diagnostika je pomerne náročná. Mikroskopicky je možné potvrdiť aktinomycéty priamo v sírových granulách, kultivácia za anaeróbných podmienok 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 na metronidazol je pomerne častá.

### ***Mobiluncus***

Baktérie z rodu *Mobiluncus* sú obligátne anaeróbne gramnegatívne (niekedy gram-variabilné) zahnuté paličky. Aj napriek ich gramnegatívnemu zafarbeniu sú klasifikované ako grampozitívne, pretože zloženie ich bunkovej steny je rovnaké ako u grampozitívnych baktérií, nemajú endotoxín a sú citlivé na vankomycín, klindamycín, erytromycín a ampicilín, sú však rezistentné na kolistín. *M. curtisii* je často vo veľkých množstvách prítomný vo vagíne žien s bakteriálnou vaginózou, jeho význam v patogenéze infekcie však nie je objasnený.



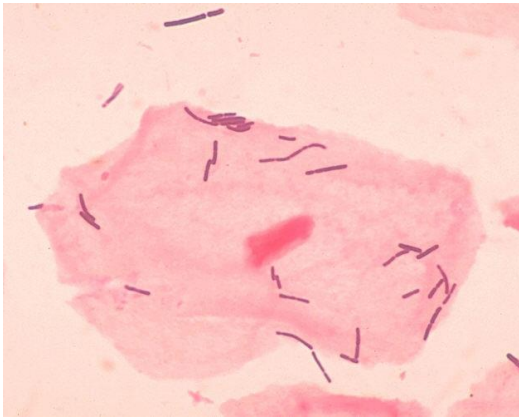
**Obr. 77. *Mobiluncus*.**

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

### ***Lactobacillus***

Laktobacily sú súčasťou normálnej mikroflóry v ústach, v žalúdku a črevách a v urogenitálnom trakte. 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, po chirurgických zákrokoch), endokarditídu alebo septikémiu u imunikompromitovaných pacientov. 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.





**Obr. 78. *Lactobacillus*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/Lactobacillus\\_sp\\_01.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/Lactobacillus_sp_01.png)

### ***Propionibacterium***

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](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Propionibacterium_acnes.tif)

Baktérie sú nepohyblivé, aerotolerantné, produkujú katalázu a sú schopné fermentovať cukry, pričom produkujú kyselinu propiónovú. *P. acnes* vyvoláva acne vulgaris a oportunistické infekcie u pacientov s umelými náhradami (chlopne) a u katetrizovaných pacientov. *P. acnes* stimuluje zápalovú odpoveď, produkcia peptidov s nízkou molekulovou hmotnosťou a ich prítomnosť v mazových folikuloch sú zodpovedné za migráciu leukocytov, ktoré fagocytujú baktérie a uvoľňujú hydrolytické enzýmy (lipázy, proteázy, neuraminidázu a hyaluronidázu). *P. propionicum* vyvoláva endodontické abscesy a zápaly slzných kanálikov.



**Obr. 80. *Acne vulgaris*.**

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

## 1.6.2 Anaeróbne nesporelujúce gramnegatívne baktérie

*Bacteroides fragilis*

*Fusobacterium nucleatum*

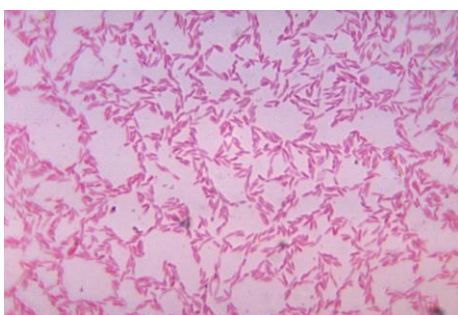
*Prevotella melaninogenica*

*Porphyromonas assaccharolytica*

*Veillonella parvula*

### Charakteristika

Gramnegatívne, striktne anaeróbne paličky alebo kokoidné paličky, obvykle opuzdrené. Sú súčasťou fyziologickej flóry predovšetkým zažívacieho traktu a sú to oportúnne patogénne mikroorganizmy vyvolávajúce tkanivové poškodenie v rôznych lokalitách. Rod *Bacteroides* sú pleiomorfné baktérie, ich rast je stimulovaný žlčou. 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](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Bacteroides_biacutis_01.jpg)

### Patogénny potenciál a imunita

Najdôležitejším nástrojom virulencie je puzdro, ktoré má výrazné antifagocytárne vlastnosti. 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 žľčové kyseliny, niektoré druhy sú schopné inaktivovať karcinogénny potenciál chemických látok. *Bacteroides* produkuje viaceré exoenzy, 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 superoxidové voľné radikály.

### 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, nespoľahlivé. 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  $\beta$ -laktamázy, takže sú rezistentné na penicilíny a niektoré cefalosporíny. Najlepšia účinnosť sa dosahuje pri podávaní metronidazolu, karbapenémov alebo  $\beta$ -laktámových antibiotík s inhibítormi  $\beta$ -laktamáz.

## 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 odobrať 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. Tieto baktérie vyvolávajú u ľudí rôzne ochorenia, sú zodpovedné napríklad za približne jednu tretinu všetkých bakteriíí, za 70% infekcií močového traktu. Vyvolávajú tiež infekcie gastrointestinálneho traktu. Niektoré enterobaktérie sú primárne patogénne (napr. *Shigella* sp., *Yersinia pestis*), alebo sú súčasťou fyziologickej mikroflóry a môžu zapríčiniť oportúnne infekcie (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*). Existujú aj enterobaktérie, ktoré sú súčasťou fyziologickej mikroflóry, ale môžu sa stať patogénnymi, ak získajú gén pre virulenciu z plazmidu alebo prostredníctvom bakteriofága.

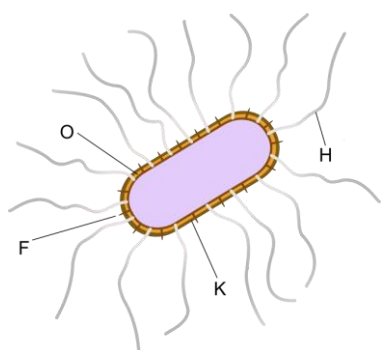
## Charakteristika

*Enterobacteriaceae* sú gramnegatívne, fakultatívne anaeróbne paličky, pohyblivé (peritrichálne bičíky) alebo nepohyblivé, netvorí spóry, rastú rýchlo na neselektívnych a selektívnych médiách, produkujú katalázu, majú negatívnu oxidázovú reakciu. Selektívne médiá sa používajú na vzájomné odlišenie 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)
- puzdrový (K antigén)
- bičíkový (H antigén)

Jednotlivé antigény je možné určiť pomocou aglutinácie so špecifickými protilátkami.



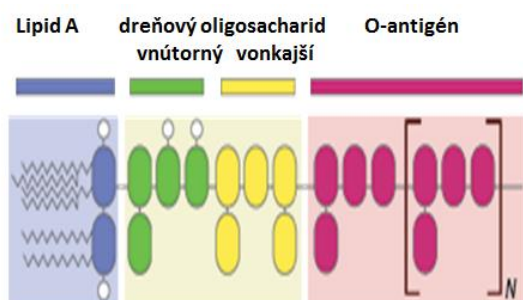
**Obr. 82. Hlavné antigény enterobaktérií.**

[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Enterobacteriaceae\\_Antigen.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Enterobacteriaceae_Antigen.svg)

## Patogénny potenciál a imunita

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

- somatický O polysacharid
- dreňový polysacharid, ktorý je spoločný pre všetky enterobaktérie, označuje sa aj ako spoločný antigén enterobaktérií, angl. enterobacterial common antigen)
- lipid A, ktorý je nositeľom endotoxínovej aktivity, je faktorom virulencie.



**Štruktúra lipopolysacharidu enterobaktérií**

**Obr. 83. Štruktúra lipopolysacharidu enterobaktérií.**

[http://www.uoguelph.ca/~cwhitfie/lps\\_core.html](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 baktericídnyim 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, skvasujúca laktózu, peritrichózne obrvená, bežne prítomná na sliznici čreva.

#### **Patogénny potenciál a imunita**

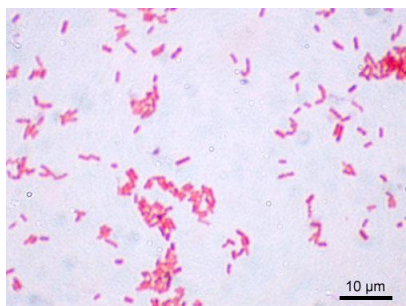
Majú základnú štruktúru typickú pre enterobaktérie (O, H a K antigény). Lipopolysacharid bunkovej steny má biologické účinky endotoxínu. Podmienečne patogénne *E. coli* sa uplatnia mimo svojej fyziologickej lokalizácie a vyvolávajú zápalovú reakciu (IMC, intraabdominálne infekcie, novorodenecké meningitídy, bakterémia). 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 **obranné 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 bežne prítomná 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 (IMC) a nozokomiálnych infekcií. Vyvoláva endogénne aj exogénne infekcie.



**Obr. 84. *E. coli* – farbenie podľa Grama.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e8/Escherichia\\_coli\\_Gram.jpg](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* produkujú 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 (Endova pôda, McConckey agar) a diagnostických (DC agar) pôdach vylúčením prítomnosti primárnych patogénom (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*) pri masívnom náleze a izolácii v monokultúre. Bližšia identifikácia sa robí na základe biochemických vlastností, fermentáciou cukrov (TSI pôda, 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 Hajnovej pôde alebo enterotestoch). Dôkaz enterohemoragickej *E. coli*, predovšetkým O157:H7 sa uskutočňuje latexovou aglutináciou, prípadne imunologickými testami pri závažných klinických diagnózach a u detí do druhého roku života. Liečba 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.

**Rod:** *Salmonella*

**druh:** *typhi*

*paratyphi*

*enteritidis*

### Charakteristika

Salmonelly tvoria rozsiahlu skupinu obligátne patogénnych G- paličiek z radu *Enterobacteriaceae*, ktoré sú charakterizované neschopnosťou skvasovať laktózu, produkciou sírovodíka, pohyblivosťou, schopnosťou produkovať toxín a výskytom mnohých antigénnych typov. Antigénnu štruktúru tvoria tri základné antigény H-antigén – bičikový 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, existuje viac ako 1500 druhov rôznych salmonel. Na základe DNA analýzy sa zistilo, že existuje *S. enteritidis* a 7 jej podskupín.

V praxi sa však používa binominálna terminológia a klasifikácia podľa antigénnej štruktúry založená na sérotypizácii (Kauffmann-Whiteova schéma).



**Obr. 85. *S. typhi* – farbenie podľa Grama.**

<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. Týfus je charakterizovaný horúčkou a dezorientáciou. U ostatných salmonel vyvolávajúcich 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 adenylecyklázy vyvoláva zmenu vodného hospodárstva a klinické príznaky akútnej gastroenteritídy. Zdrojom infekcie je človek, chorý alebo bacilonosič. Prenos je nepriamo fekáliami kontaminovanou vodou, 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.

### 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. 86. Brušný týfus – vyrážky na koži.**

<http://www.skinsight.com/atlas/typhoidFever.htm>

**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 g potraviny. Nižšie množstvo salmonel sa nemusí prejavíť ochorením, salmonely sa len vylučujú 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.

#### **Laboratórna diagnostika a liečba**

Odobratý materiál (výter z rekta, tampón stolice), je kultivovaný na krvnom agare a selektívnych a diagnostických pôdach (McConckey agar a dezoxycholát citrátový agar) využívajúc neschopnosť salmonel fermentovať laktózu a schopnosť produkovať sírovodík (u *S. typhi* tenký prstenec) a malé množstvo plynu. Na základe biochemickej identifikácie sa potvrdí prítomnosť salmonel. Konečná sérotypizácia sa robí špecifickými antisérmi aglutináciou na sklíčku na základe Kauffman-Whitovej schémy. Salmonelly sú dobre citlivé na trimetoprim – sulfametoxazol, ampicilín, chloramfenikol, cefalosporíny, chinolóny. Používajú sa pri celkových a extraintestinálnych ochoreniach na základe testu citlivosti. Infekcie gastrointestinálneho traktu sa obvykle neliečia antibiotikami, paradoxne po liečbe antibiotikami vznikalo epidemiologicky závažné dlhodobé nosičstvo salmonel.

**Rod:** *Shigella*

**druh:** *dysenteriae*

*flexneri*

*sonnei*

*boydii*

#### **Charakteristika**

Sú to gramnegatívne paličky, fakultatívne anaeróbne, nepohyblivé, málo metabolicky aktívne, bez schopnosti produkovať plyn a skvasovať laktózu.

Klasifikácia šigel:

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

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

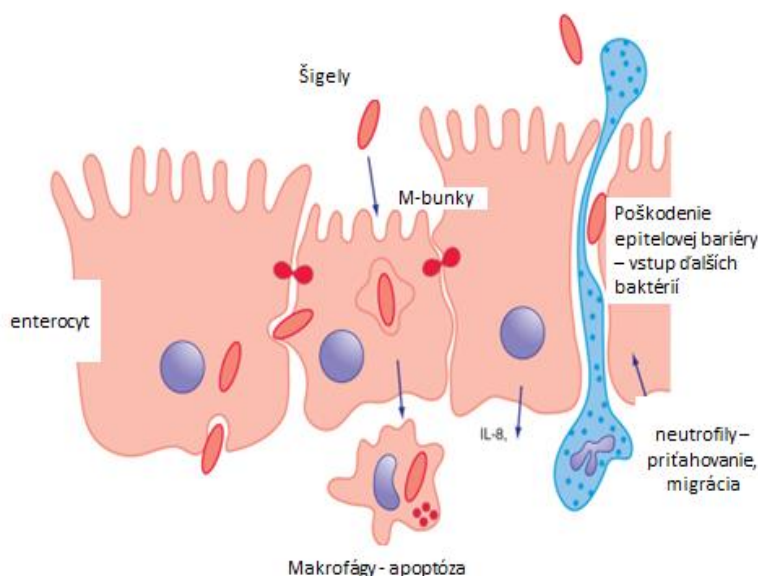
**podskupina C** – fermentuje manitol, iné antigény ako B, tvorí ju *Shigella boydii*

**podskupina D** – oneskorene fermentuje laktózu, tvorí ju *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 buniek už 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. Patologické zmeny postihujú prakticky len hrubé črevo, a to hlavne v jeho distálnej časti. Hlbší prienik do tkanív je vzácny, bakteriémia ani systémové ochorenie pri bežných kmeňoch väčšinou nevzniká. V patogenéze sa uplatňujú proteíny kódované na plazmide a mnohé ďalšie mechanizmy. K významnému faktoru virulencie *Shigella dysenteriae* patrí 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. Šigely sú málo odolné, no na infekciu stačí veľmi malá dávka. Je to 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).



**Obr. 87. 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](http://www.uptomed.ir/Digimed.ir/nelson-textbook-of-pediatrics-18th-edition/Nelson_Textbook_of_Pediatrics_18th_Edition/HTML/818.htm)

### 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 neskvasujúce kolónie sa identifikujú na základe biochemických vlastností (shigely neprodukujú sírovodík, nie sú pohyblivé). Aglutinácia na sklíčku so špecifickými antisérmi 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.

**Rod:** *Yersinia*

**druh:** *enterocolitica*  
*pestis*

### Charakteristika

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



**Obr. 88. *Y. pestis* – farbenie podľa Grama.**

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

### Patogénny potenciál a imunita

Yersínie majú somatický O-antigén a lipid A s endotoxínovou aktivitou. Sú schopné adhérencie 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 vektore ich nemajú, čo možno vysvetľuje nepatogénne pôsobenie baktérií v tele hmyzu. *Y. pestis* prežíva v monocytoch a po ich opustení obsahuje obidva antigény

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

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

- **bubonický mor** (žľazový mor) – 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. 89. Bubonický mor.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2f/Plague\\_-\\_buboes.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2f/Plague_-_buboes.jpg)

- **pľúcny mor** – môže sa 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 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 spútum. 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 ATB a v liečbe sa používa chloramfenikol a streptomycín.

*Y. enterocolitica* je citlivá na ampicilín a tetracyklín.

#### **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**

Gramnegatívne paličky, obvykle pohyblivé, nesporulujúce, 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 odlišenie 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 temolabilný 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 (toxicita 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).

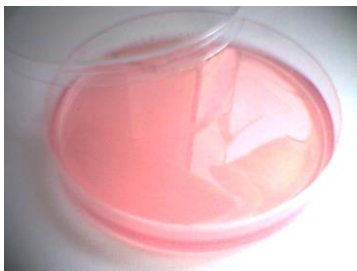
### **Úlohy na praktické cvičenia**

#### **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 tetrationsátová 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. Koliformné baktérie skvasujúce laktózu tvoria ružovo-červené až

silno červené vypuklé kolónie, v niektorých prípadoch so zlatým kovovým leskom (*E. coli*). Rovnako sa sfarbuje médium okolo kolónií. Mikroorganizmy, ktoré laktózu nefermentujú sú bezfarebné, dobre pozorovateľné oproti ružovému pozadiu pôdy.



**Obr. 90. Endova pôda.**

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/Endo-Agar.jpg>

**Dezoxycholát-citrátový agar (DCA)** slúži na izoláciu patogénnych črevných enterobaktérií a vzájomné rozlišovanie salmonel a šigel. Selektivita je dosiahnutá pridaním dezoxycholanu sodného a citronanov, ktorý inhibuje grampozitívne baktérie. 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.



**Obr. 91. Dezoxycholát-citrátový agar (DCA).**

<http://images.howmed.net/wp-content/gallery/dca/dca-1.jpg>

**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. 92. MacConkey agar.**

<http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/differential/>

**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 odlišiť od bežnej črevnej flóry, ktorá laktózu fermentuje (je teda laktóza-pozitívna).



**Obr. 93. EMB agar - pôda s eozínom a metylénovou modrou.**

<http://learn.chm.msu.edu/vibl/content/differential/>

## **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 karbolfuchsín (telá budú ružové) alebo metylénová modrá (telá budú modré). Puzdra sa zviditeľnia na tmavom pozadí ako nezafarbené lemy okolo baktérií.

## **C. Dôkaz pohyblivosti enterobaktérií**

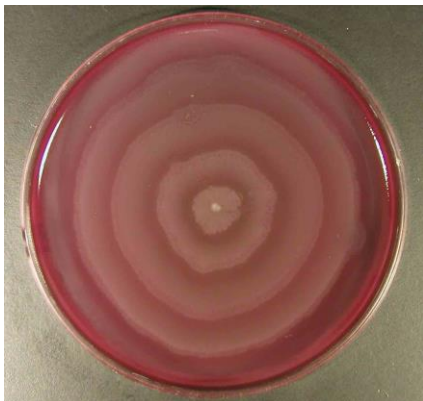
### **Natívny preparát**

**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 baktérievej populácie od stredu k okrajom petriho misky. Tento jav sa označuje ako Raussov fenomén.



Obr. 94. Raussov fenomén.

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

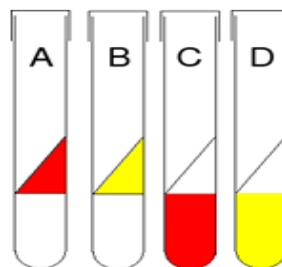
**Hajnova pôda** je šikmo naliata, tuhá pôda červenej farby, určená na stanovenie niektorých biochemických vlastností enterobaktérií. Pôdu očkujeme kľučkou, naočkujeme vždy iba jednu izolovanú kolóniu. Obsahuje cukry, soli železa a farebný indikátor (fenolová červeň). Pri skvasovaní cukrov dôjde k poklesu 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.

#### Hajnova pôda

A	červená vrchná časť	neskvasuje laktózu
B	žltá vrchná časť	skvasovanie laktózy
C	červená spodná časť	neskvasuje glukózu
D	žltá spodná časť	skvasovanie glukózy

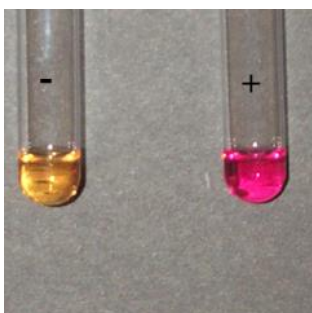
Čierne zafarbenie spodnej časti tvorba sírovodíka

Vytlačenie pôdy nahor alebo jej roztrhanie svedčí pre tvorbu plynu.



Obr. 95. Hajnova pôda – dôkaz biochemickej aktivity enterobaktérií.

**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. 96. 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. 97. Pozitívna tvorba indolu – ružový prstenec na povrchu.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/75/Indole\\_test\\_positive.jpg](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 využitím sacharidov, bielkovín alebo iných látok. Diagnostika pozitívnej biochemickej reakcie je založená na zmene farby testovacieho média. Sú dostupné štandardné komerčné testy a súbory (ENTEROTEST). Diagnostická súprava ENTEROtest 24 je určená na definitívnu identifikáciu baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* a *Vibrionaceae* do 24 hodín. Súprava obsahuje 24 biochemických testov umiestnených v troch riadkoch delenej mikrotitračnej doštičky.

### *Vibrionaceae*

**Rod:** *Vibrio*

**druh:** *cholerae*

*parahaemolyticus*

*vulnificans*

*alginolyticus*

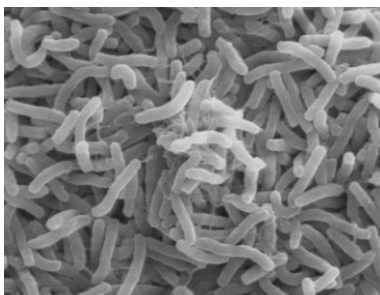
**Rod:** *Aeromonas*

### *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 (preživa 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 podmiennečne patogénne, tolerujú slané prostredie (morská voda).



**Obr. 98. *Vibrio cholerae* v elektrónovom mikroskope.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9d/Cholera\\_bacteria\\_SEM.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9d/Cholera_bacteria_SEM.jpg)

### Patogénny potenciál a imunita

Podľa typu O- antigénu sa rozlišuje šesť sérologických skupín. Patogénne sú *V. cholerae* obsahujúce O1 antigén, 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. 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 hypersekrécia 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 achlorhydriou alebo hypochlorhydriou 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, 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 zodpovedná za infekcie rán, kontaminovaných morskou vodou obsahujúcou tieto mikroorganizmy.

### 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). TCBS agar je selektívne médium pre vibriá, obsahuje thiosulfát, citrát, žľe 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.

### ***Aeromonas***

#### **Charakteristika**

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



**Obr. 99. *Aeromonas* spp.**

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

#### **Patogénny potenciál a imunita**

Baktérie produkujú rôzne faktory virulencie (endotoxíny, hemolyzíny, 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 a pacienti s malignitami).

## **1.8 *Campylobacter* a *Helicobacter***

Tieto mikroorganizmy patria medzi častých vyvolávateľov ochorení u ľudí. Sú to dve geneticky príbuzné skupiny gramnegatívnych organizmov charakteristické zahnutým alebo špirálovitým tvarom.

**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. 100. *Campylobacter* spp. – farbenie podľa Grama.**

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

### **Patogénny potenciál a imunita**

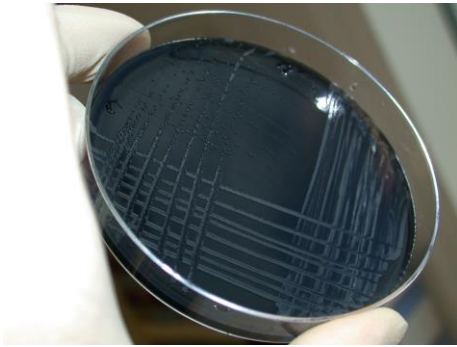
Má typickú stavbu gramnegatívnych baktérii (bakteriálna stena obsahuje lipopolysacharid s biologickým účinkom endotoxínu) a s typickou antigénnou štruktúrou (K puzdrový termolabilný antigén, O somatický termostabilný antigén, H bičkový antigén). Rôzne druhy majú rôznu antigénnu štruktúru. Je identifikovaných 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. Je to najčastejšie hnačkové ochorenie 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 skonzumovaní kontaminovanej potravy. Hlavným príznakom sú časté, prudké hnačky, kŕčovitá bolesť brucha, zvýšená teplota, bolesť 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 žlčníka, hnisavé ložiská v iných orgánoch a neskôr aseptické artritídy (neinfekčné zápal klbov).

### **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 významný nález leukocytov v stolici ako indikátor kampylobakterovej infekcie. V niektorých prípadoch je nutné podať 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. 101. *Campylobacter jejuni* – kultivácia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/aa/Campylobacter\\_jejuni.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/aa/Campylobacter_jejuni.jpg)

**Rod:** *Helicobacter*

**druh:** *pylori*

*cinnaedi*

*fennelliae*

*heilmanii*

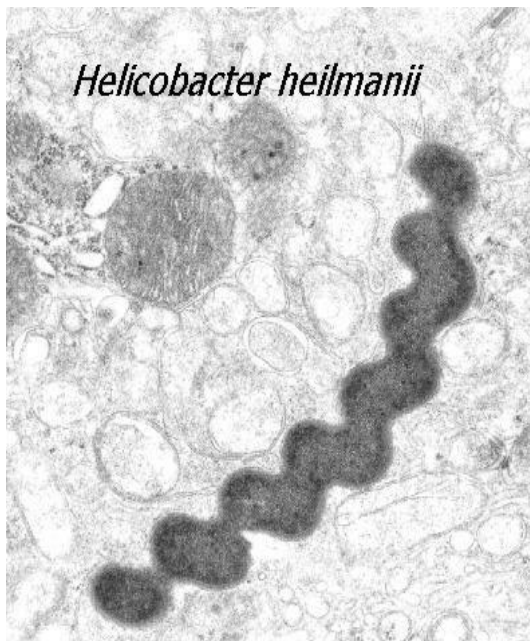
### Charakteristika

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



**Obr. 102. *H. heilmanii*.**

[http://www.helicobacter.org/content/faq/images\\_heilmanii.htm](http://www.helicobacter.org/content/faq/images_heilmanii.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.

### **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. cinaedi*, *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.

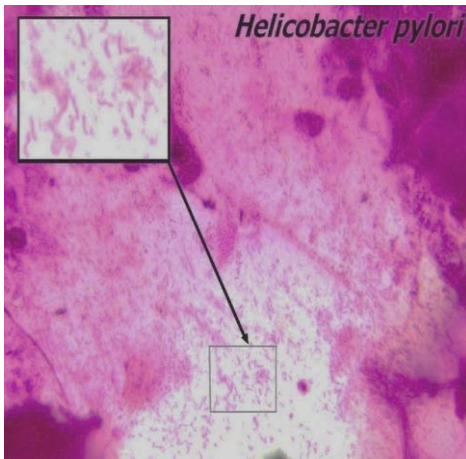
Ureázový test je založený na laboratórnej detekcii alkalických metabolitov ureázovej aktivity. Je to rýchly test z bioptického materiálu. Dychová skúška detekuje v dychu metabolity ureázovej aktivity baktérie (po podaní značenej močoviny). Kultivácia z bioptického materiálu sa v praxi nevyužíva. *Helicobacter* vyžaduje obohatené médiá (kry, 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. línia liečby sú rovnocenné možnosti. V odôvodnených prípadoch je možné eradikačnú liečbu predĺžiť na 10 až 14 dní.

### **Úlohy na praktické cvičenia**

#### **A. Mikroskopia *H. pylori***

##### **Mikroskopujte preparát pripravený z bioptického materiálu (sliznica žalúdka).**

*H. pylori* je nesporelujúca, gram-negatívna palička s charakteristickou spiriliformnou periodickosťou bunkovej steny. 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. 103. *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.



**Obr. 104. *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*?

## 1.9 Nefermentujúce gramnegatívne paličky

### Pseudomonády a príbuzné baktérie

**Rod:** *Pseudomonas*

**druh:** *aeruginosa*

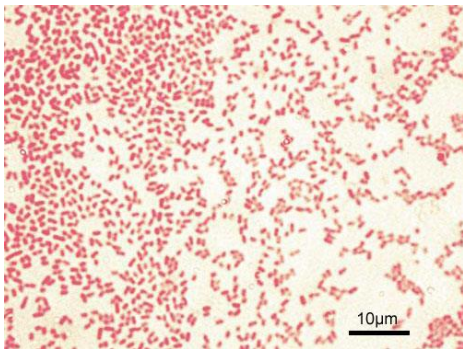
**Rod:** *Burkholderia*

**Rod:** *Stenotrophomonas*

### Charakteristika

#### *Pseudomonas*

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, na rozdiel od 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. 105. *P. aeruginosa* – farbenie podľa Grama.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2d/Pseudomonas\\_aeruginosa\\_Gram.jpg](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:

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

Polysacharidové puzdro pseudomonád má antifagocytárne vlastnosti. Mnohé pseudomonády produkujú pigment, niektoré druhy pigmentov fluoreskujú a majú charakteristickú vôňu a farbu (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). Najúčinnjším mechanizmom nešpecifickej imunity je fagocytóza polymorfonukleárnymi leukocyty. Aktivácia komplementu je často neúčinná. Vývoj špecifickej antitoxickej imunity je dôležitý na úspešné zvládnutie infekcie.

### 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 infikovaní HIV, príjemcovia transplantátov a pacienti s popáleninami, sú zvlášť rizikovní 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. 106. 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 črevných paličiek sú odlišiteľné pozitívnu 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. Celkové pseudomonádové infekcie sú život ohrozujúce aj vzhľadom na rezistenciu nozokomiálnych kmeňov (vždy je potrebné stanovenie citlivosti) a imunitný stav pacientov.

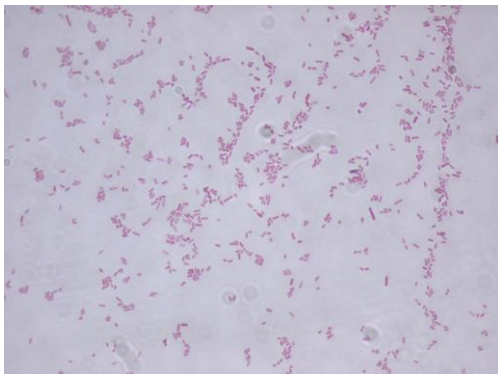
### **Ostatné nefermentujúce gramnegatívne paličky**

*Acinetobacter baumani* je súčasťou fyziologickej flóry orofaryngu. Od pseudomonád je odlišiteľný na základe negatívneho cytochrómoxidázového testu. Ako podmienene 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 CO<sub>2</sub>. 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. 107. *Stenotrophomonas maltophilia* – farbenie podľa Grama.**

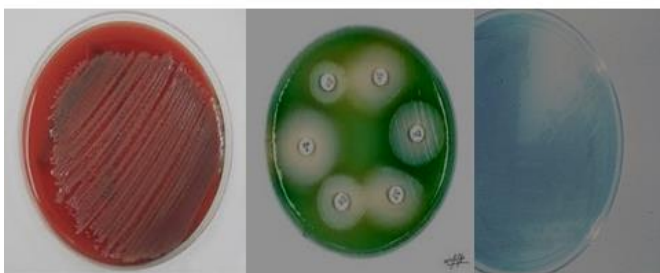
[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/84/Stenotrophomonas\\_maltophilia.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/84/Stenotrophomonas_maltophilia.jpg)

## Úlohy na praktické cvičenia

### A. Kultivácia *P. aeruginosa* – produkcia pigmentov

Mnohé pseudomonády produkujú pigment, niektoré druhy pigmentov fluoreskujú (pyocyanín, pyoverdín, pyorubín). Kultúry majú charakteristickú vôňu.

#### *Pseudomonas aeruginosa*



perleťové kolónie-krvný agar

zelený pigment – pyoverdín

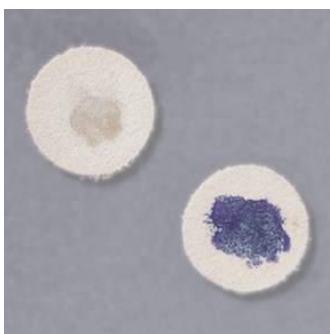
modrý pigment - pyocyanín

**Obr. 108. *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* má pozitívnu oxidázovú reakciu, test sa používa na odlíšenie *P. aeruginosa* od ostatných gramnegatívnych paličiek z čeľade *Enterobacteriaceae*.



**Obr. 109. *P. aeruginosa* – pozitívny oxidázový test (vpravo).**

[http://www.fishersci.com/ecommerce/servlet/fsproductdetail\\_10652\\_15005403\\_-1\\_0](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. 10 Ostatné gramnegatívne paličky

**Rod :** *Brucella*

**druh:** *abortus*

*melitensis*

*suis*

*canis*

### Charakteristika

Brucely 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 (febris undulans Bang, vyvolávateľom je *B. abortus*) alebo endemická infekcia (vyvolávateľom je *B. melitensis*, spôsobuje Maltskú horúčku alebo febris undulans Bruce). 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.

### 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. melitensis*. Infekcia má subakútny alebo chronický charakter s tvorbou granulómov následkom hypersenzitívnej reakcie. U ľudí využívajú ako zdroj energie glukózu, takže nie vyjadrená predilekcia k infekcii maternice. V obrannej odpovedi sa uplatňuje bunkami sprostredkovaná imunita (T lymfocyty, aktivované makrofágy). Protilátková imunita má len minimálnu úlohu.

### 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, iníciaľne 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).



**Obr. 110. *Brucella* spp. – kolónie na krvnom agare.**

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

### **Laboratórna diagnostika a liečba**

Izolácia brucel je možná z krvi pri predĺženej kultivácii (2-3 týždne) na obohatenom krvnom agare (prítomnosť bázických farbív) v atmosfére s 5-10% CO<sub>2</sub>. Časté subklinické prípady sa potvrdia sérologickými testami, suspektne 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.

**Rod:** *Francisella*

**druh:** *tularensis*

### **Charakteristika**

Gramnegatívne nepohyblivé, kultivačne náročné baktérie vyvolávajúce tularémiu (zoonóza, prenosná na človeka). Sú striktne aeróbne, nefermentujúce, produkujú 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 (dokazuje sa kožným testom s použitím puzdrového lipidu ako antigénu na testovanie bunkovej špecifickej imunity – tularínový test). *Francisella* je intracelulárny parazit, prežívajúci v makrofágoch. Lipopolysacharid bunkovej stene 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<sup>6</sup> mikroorganizmov. Veľmi nebezpečné sú laboratórne infekcie, baktérie prenikajú kožou a sliznicami.

## Ochorenia

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

1. **ulceroglandulárna** forma – kožné ulcerácie, zdurené regionálne lymfatické uzliny
2. **okuloglandulárna** forma – postihnutie oka, zdurené 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.

*F. tularensis* patrí medzi mikroorganizmy, ktoré je možné využiť ako biologickú zbraň.



**Obr. 111. Tularémia – kožná lézia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6a/Tularemia\\_lesion.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6a/Tularemia_lesion.jpg)

## Laboratórna diagnostika a liečba

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 skrížene reaguje s protilátkami proti brucelám. Titer nad 160 je suspektný. Laboratórna diagnostika je extrémne riziková. Baktéria je citlivá na streptomycín, tetracyklín, gentamycín, chloramfenikol, produkuje betalaktamázy.

**Rod:** *Pasteurella*

**druh:** *multocida*

## Charakteristika

Pasteurely 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*.

## Patogénny potenciál a imunita

Hlavným faktorom virulencie je polysacharidové puzdro obsahujúce kyselinu hyalurónovú.

## Ochorenia

Infekcia sa prejavuje ako:

- lokalizovaná celulitída a lymfadenitída po pohryzení alebo po poškrabani zvieratom
- exacerbácia chronického respiračného ochorenia u pacientov s pľúcnou dysfunkciou (pravdepodobne po aspirácii infikovaného sekrétu z orofaryngu)
- systémová infekcia u imunokompromitovaných pacientov

### Laboratórna diagnostika a liečba

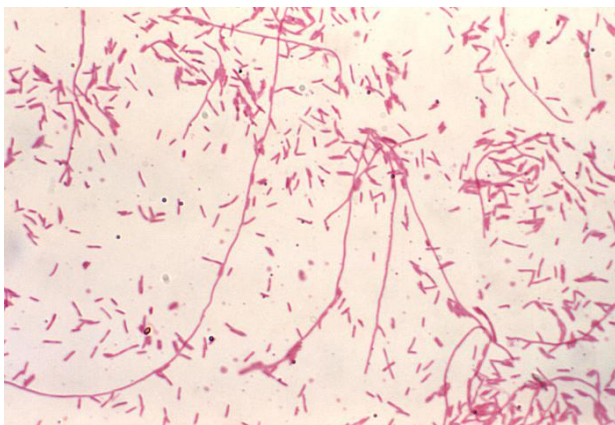
Pasteurelly dobre rastú na čokoládovom alebo krvnom agare vo forme maslovitých, charakteristicky zápachajúcich kolónií (produkcia indolu). V liečbe sa osvedčili penicilíny, cefalosporíny s rozšíreným spektrom účinku, tetracyklíny alebo chinolóny.

**Rod:** *Legionella*

**druh:** *pneumophila*

### Charakteristika

*Legionella* je vodný saprofyt a ľudský patogén dýchacieho systému, identifikovaný v roku 1976 ako pôvodca ťažkej pneumónie účastníkov stretnutia legionárov vo Philadelphii. Je to gramnegatívna, slabo sa farbiaca, kokovitá alebo pleiomorfná, pohyblivá palička, produkujúca katalázu. Kultivačne je veľmi náročná. Produkuje fluoreskujúci žltý pigment. Existuje viac druhov (25) a séroskupín (42) legionel, medicínsky významných je 14. Legionely sú schopné vyvolať závažné infekcie predovšetkým u imunokompromitovaných pacientov (po transplantáciách) alebo u ľudí s poškodením pľúc (fajčiari) pri dlhej expozícii.



**Obr. 112. *L. pneumophila* – farbenie podľa Grama.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/LegionellaPneumophila\\_Gram.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/LegionellaPneumophila_Gram.jpg)

### Patogénny potenciál a imunita

Bunková stena obsahuje kyselinu diaminopimelovú a veľmi málo peptidoglykán. Lipopolysacharid pravdepodobne neobsahuje endotoxínovú súčasť – lipid A. Niektoré druhy produkujú hemolýziny 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

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

- Pontiaccka 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.



### 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 sprevádzajúcej mikroflóre. Kultivuje sa pri 35°C 3-5 dní. Na rodovú identifikáciu sa používajú špeciálne chromogénne pôdy. Sérologický dôkaz ochorenia je možný pomocou komplementfixačnej reakcie, titre nad 256 sú suspektné, dlho pretrvávajú. Z novších metodík je možné použiť ELISA dôkaz IgM protilátok. Vzhľadom na kultivačnú náročnosť je stanovenie citlivosti zriedkavo úspešné. Legionelly sú citlivé na erytromycín, rifampicín, azitromycín, fluorochinolóny, sú rezistentné na betalaktámové antibiotiká.

**Rod:** *Bordetella*

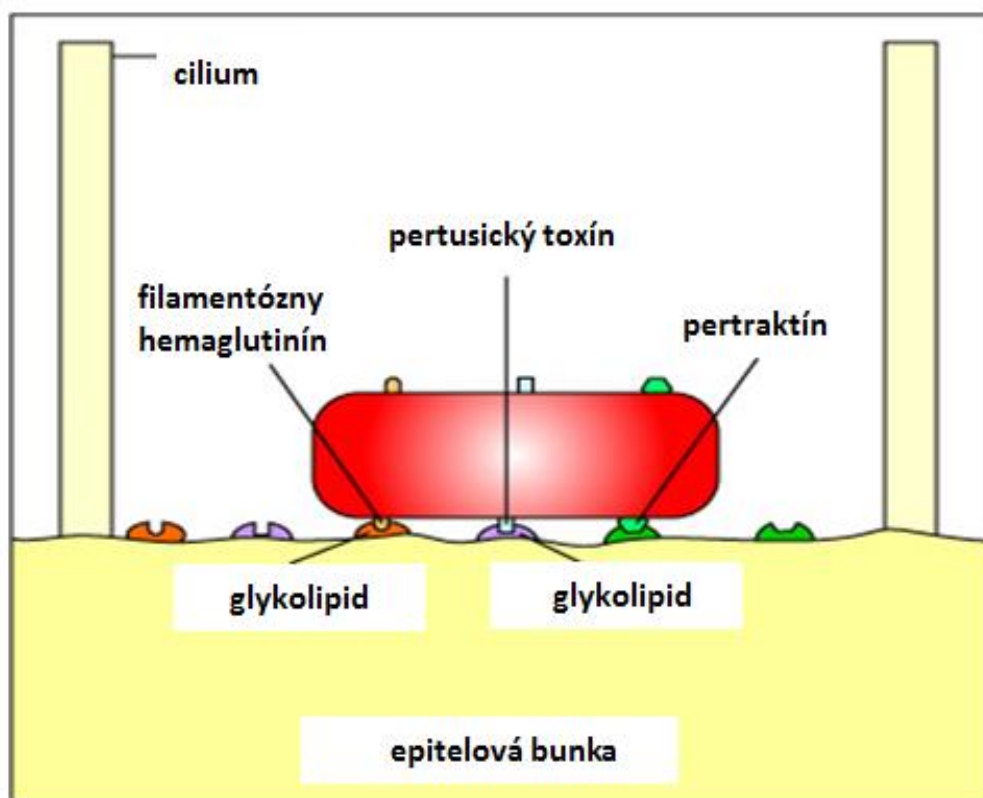
**druh:** *pertussis*

*parapertussis*

*bronchiseptica*

### Charakteristika

Predstavitelia rodu *Bordetella* sú striktne aeróbne, gramnegatívne, nepohyblivé, ťažko sa farbiace kokobacily, ktoré majú podobné rastové, biochemické a antigénne vlastnosti. Odlišujú sa virulenciou. Bordetely nie sú nutrične náročné, ale niektoré substancie sú pre ne toxické (napr. masťné kyseliny prítomné v bavľne). Oxidujú aminokyseliny, nefermentujú uhl'ohydráty. *B. pertussis* vyvoláva čierny kašeľ – pertussis, *B. parapertussis* podobné, miernejšie prebiehajúce ochorenie, *B. bronchiseptica* respiračné ochorenie zvierat prenosné na človeka.



Obr. 113. *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. *Bordetella* obsahuje 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 hemagglutinín – 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.

### Ochorenia

*Bordetella pertussis* je pôvodcom **pertussis** - syndrómu dávivého (čierneho) kašľa. 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 bavlně 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, filamentózne hemagglutinín a pertraktín.

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

#### **Charakteristika:**

Hemofily sú 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.

#### **Patogénny potenciál a imunita:**

Baktérie z rodu *Haemophilus*, predovšetkým neopuzdrené kmene *H. influenzae* a *H. parainfluenzae*, sú bežne 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) 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.

#### **Ochorenia**

##### ***H. influenzae***

**Meningitída** postihuje najmä neimúnnu detskú populáciu, baktérie sa krvnou cestou šíria z nazofaryngu do centrálneho nervového systému. Po miernej infekcii dýchacích ciest sa v priebehu 1-3 dní vyvíjajú charakteristické príznaky meningitídy. Infekcia sa šíri interhumánne.



**Obr. 114. Hemofilová epiglottitída – opuch a erytém na epiglottis.**

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

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

#### *H. ducreyi*

**Ulcus molle (mäkký vred, chancroid)** je sexuálne prenosné ochorenie, ktoré sa prejavuje vznikom mäkkých papúl na erytematóznej báze v oblasti genitálu alebo rekta. Lézie postupne ulcerujú, sú bolestivé, dochádza k postihnutiu regionálnych lymfatických uzlín. V rámci diferenciálnej diagnostiky je potrebné túto infekciu odlíšiť od syfilisu a herpes simplex.



**Obr. 115. Ulcus molle.**

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

#### **Laboratórna diagnostika a liečba:**

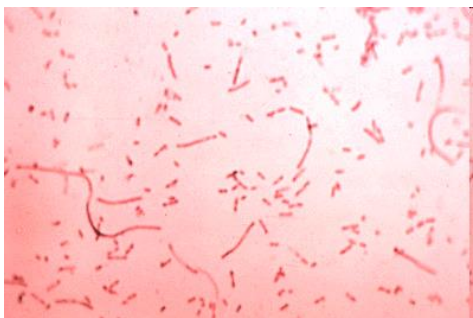
V mikroskopických preparátoch z klinických vzoriek sú viditeľné gramnegatívne pleiomorfné paličky (kokobacilárne útvary, alebo dlhé vlákna). Hemofily sú nutrične náročné, v kultivačných pôdach vyžadujú prítomnosť rastových faktorov (**hemín-faktor X, nikotínamidadenín-dinukleotid-faktor V**). Obidva 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 odlíšenie hemofilov. Na liečbu hemofilových infekcií sa používajú chránené betalaktámové antibiotiká (amoxicilin-klavulanát, ampicilín-sulbactam), cefalosporíny II. generácie alebo makrolidové antibiotiká podľa testovania citlivosti. Očkovanie proti *Haemophilus influenzae* je u nás od r. 2000 súčasťou pravidelného očkovania detí.

#### **Úlohy na praktické cvičenia**

##### **A. Mikroskopia *H. influenzae***

**Prípravte fixovaný preparát z kultúry *H. influenzae*, zafarbíte podľa Grama, mikroskopujte.**

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

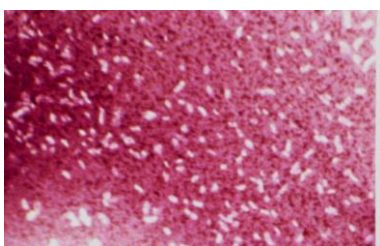


**Obr. 116. *H. influenzae* – farbenie podľa Grama.**

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

**Pripravte fixovaný preparát z kultúry *H. influenzae*, zafarbíte Burriho tušovou metódou, mikroskopujete.**

Burriho tušová metóda sa používa na dôkaz prítomnosti baktériových puzdier.



**Obr. 117. *H. influenzae* – Burriho tušová metóda.**

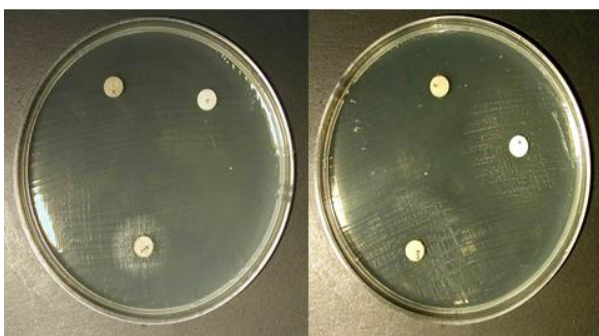
## **B. Kultivácia hemofilov**

### **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 obidvoch faktoroch slúži k druhovej identifikácii hemofilov.

*H. influenzae*

*H. parainfluenzae*



**Obr. 118. Rastové faktory – identifikácia hemofilov.**

[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)

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

Čokoládový agar sa používa najmä na kultiváciu patogénnych neissérií 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).





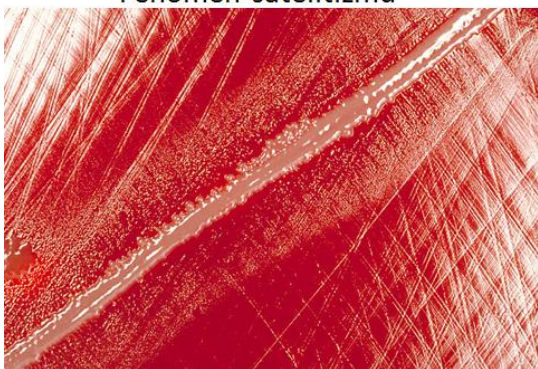
**Obr. 119. *H. influenzae* – kolónie na čokoládovom agare**

<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.

**Fenomén satelitizmu**

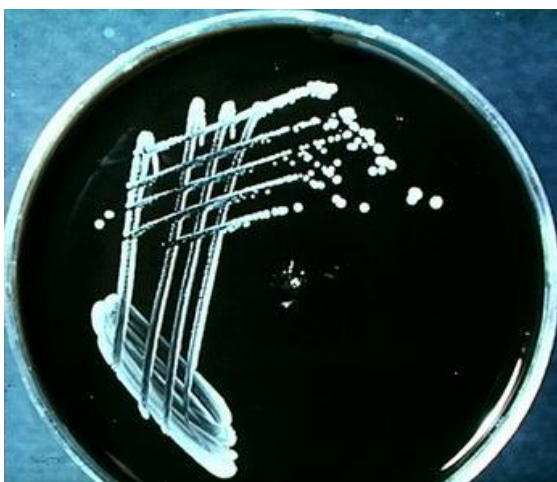


**Obr. 120. Fenomén satelitizmu.**

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

#### **C. Kultivácia *B. pertussis***

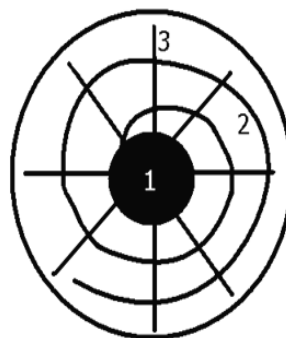
*B. pertussis* sa kultivuje na obohatených pôdach. Používa sa Bordette-Gengou pôda, ktorá obsahuje zemiakový extrakt, glycerín, baraniu krv a penicilín G (0,5 mg/l). Kolónie vyrastajú za 36 - 72 hodín, sú drobné, priesvitné, perleťovo lesklé



***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. 121. *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 materiál 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 odlíšiť jednotlivé druhy hemofilov?
18. Charakterizujte rastové faktory potrebné pre hemofily.
19. Čo je fenomén satelitizmu?
20. Aká je liečba a prevencia hemofilových infekcií?

## 1.11 Spirochéty

### Charakteristika

Spirochéty sú gramnegatívne špirálovité baktérie, ich telo je tvorené protoplazmatickým valcom a obalmi, bičiky 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 bičiky 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 bičiky.

#### 1.11.1 Treponémy

*T. pallidum* subsp. *pallidum*

*T. pallidum* subsp. *endemicum*

*T. pallidum* subsp. *pertenue*

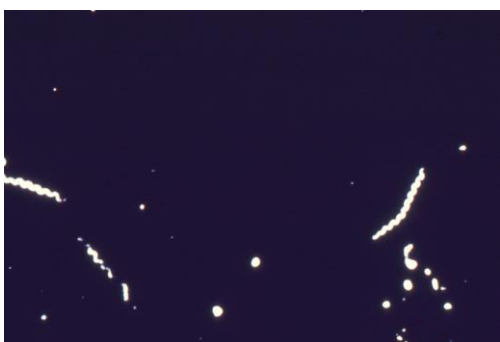
*T. carateum*

*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 hemolyzíny 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. 122. *T. pallidum* – mikroskopia v tmavom poli.**

[http://www.microbeworld.org/index.php?option=com\\_jlibrary&view=article&id=7734&Itemid=54](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. 123. Yaws.**

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

### **Laboratórna diagnostika a liečba**

Treponémy sa farbia 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.

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 kardiolípinu, sú nešpecifické (môžu byť pozitívne pri niektorých iných ochoreniach súvisiacich s rozpadom buniek). Tieto testy sa používajú na detekciu terapeutického úspechu. **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, 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.

## Úlohy na praktické cvičenia

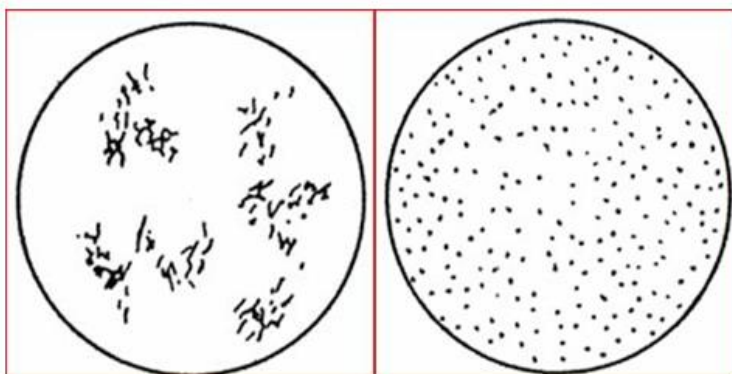
### A. Netreponémové testy (nešpecifické, skriningové)

**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 (netreponémový), ako antigén sa využíva kardiolipín s cholesterolom a s lecitínom. V prípade prítomnosti antikardiolipínových protilátok sú viditeľné zhluky.

VDRL: Venereal Disease Research Laboratory



**Obr. 124. VDRL – schéma. Reaktívne sérum vľavo.**

[http://209.61.208.233/en/Section10/Section17/Section53/Section482\\_1798.htm](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 syfylis

**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.

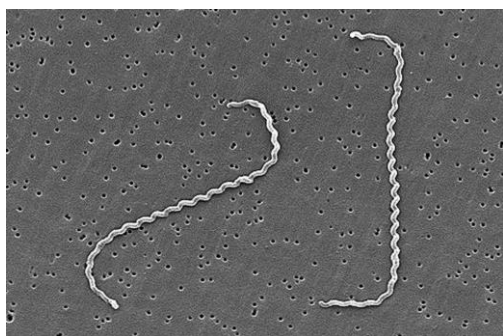


### 1.11.2 Leptospiry

**Rod:** *Leptospira*  
**druh:** *interrogans*  
*icterohaemorrhagica*  
*pomona*

#### Charakteristika

Leptospiry sú špirálovité organizmy, veľmi tenké, obligátne aeróbne baktérie s výraznou pohyblivosťou. Ich štruktúra je podobná iným spirochétam, majú mnohvrstvovú vonkajšiu membránu a bičiky umiestnené v periplazmatickom priestore. Ich nutričné požiadavky zahŕňajú masťné kyseliny a vitamíny B12 a B1. Na základe antigénnej štruktúry rozoznávame viac ako 180 serotypov. Vyvolávajú leptospirózu, ochorenia prejavujúce sa subklinicky až fatálne.



**Obr. 125. *Leptospira interrogans* – elektrónová mikroskopia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4b/Leptospira\\_interrogans\\_strain\\_RGA\\_01.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4b/Leptospira_interrogans_strain_RGA_01.png)

#### Patogénny potenciál a imunita

Porušená sliznica, koža alebo spojovky sú vstupnou bránou pre baktérie. Organizmy vyvolávajú generalizovanú infekciu s bakterémiou (leptospiремická 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 neprodukurujú 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 neskorej 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 prejaviť 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.

### 1.11.3 Borélie

**Rod:** *Borrelia*

**druh:** *recurrentis*, *burgdorferi*, *afzelii*

#### Charakteristika

Borélie spôsobujú dva typy ochorení – návratnú horúčku (epidemickú aj endemickú) a lymskú boreliozu. Borélie sú prenášané vektorom. U epidemickej návratnej horúčky blchou, u endemickej horúčky a boreliózy sú vektorom kliešte. Štrukturálne sú podobné leptospírám. 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 (0,5x30µm), sú dobre viditeľné o 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.

#### Ochorenia

##### Lymská borelióza

*Borrelia burgdorferi* sensu lato je pôvodcom lymskej 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 lymskej 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. 126. Erythema chronicum migrans.**

[http://www.dr-gumpert.de/html/borreliose\\_symptome.html](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.

### **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?

## 1.12 Baktérie bez bunkovej steny

**Rod:** *Mycoplasma*  
**druh:** *pneumoniae*  
*hominis*

**Rod:** *Ureaplasma*  
**druh:** *urealyticum*

### Charakteristika

Mykoplazmy 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. Na stavbu bunkovej membrány je potrebný cholesterol. Energiu získavajú rozkladom arginínu. Mykoplazmy sú fakultatívne anaeróbne s výnimkou *M. pneumoniae*, ktorá je striktne aeróbna. Ureaplazma vyžaduje tiež ureu na vytvorenie energetického gradientu (premena urey na amoniak zabezpečí produkciu ATP).

### 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). Ureaplazma 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 glykoplipidov mykoplazmiem.

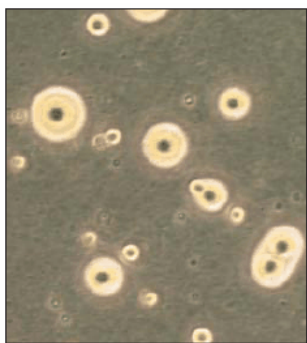
### Ochorenia

*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**, ojedinele **pyelonefritídu**. *Ureaplasma urealyticum* sa nachádza v urogenitálnom systéme aj u zdravých ľudí. Môže sa podieľať na vzniku nekvapkového 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 mykoplazmiem tvar volského oka. Potvrdenie je možné imunofluorescenčne 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 KFR. Mykoplazmy a ureaplazmy nie sú citlivé na antibiotiká pôsobiace na úrovni

bunkovej steny. V liečbe sa využíva tetracyklín, chloramfenikol, aminoglykozidy a makrolidové antibiotiká.



**Obr. 127. *M. pneumoniae* – charakteristické kolónie pripomínajúce volské oko.**

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

## 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?

## 1.13 Obligátne intracelulárne baktérie

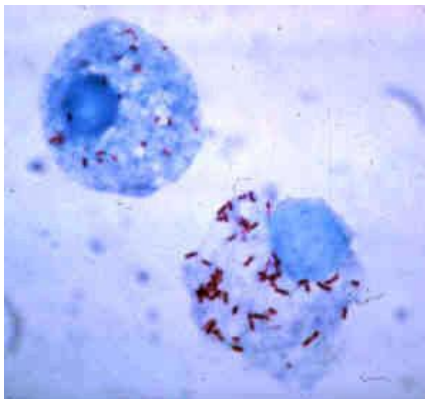
### 1.13.1 ČEĽAĎ: RICKETTSIAEAE

Rod: <i>Rickettsia</i>	druh: <i>rickettsii</i> , <i>prowazeki</i> , <i>typhi</i>
Rod: <i>Orientia</i>	druh: <i>tsutsugamushi</i>
Rod: <i>Coxiella</i>	druh: <i>burnetii</i>
Rod: <i>Bartonella</i>	druh: <i>bacilliformis</i> , <i>quintana</i> , <i>henselae</i>
Rod: <i>Ehrlichia</i>	druh: <i>chennetsu</i> , <i>ahffeensis</i> , <i>phagocytophila</i>

#### Charakteristika

Baktérie z čeľade *Rickettsiaceae* sú typické gramnegatívne paličky, majú tenkú vrstvu peptidoglykánu a lipopolysacharid so slabou endotoxínovou aktivitou. Nemajú bičiky, slabo sa farbja podľa Grama, na ich zafarbenie sa používa farbenie podľa Giemsa alebo podľa Machiavella. Baktérie z rodu *Orientia* nemajú peptidoglykán ani lipopolysacharid. Všetky (s výnimkou *Rochalimeia*) sú obligátne intracelulárne energetické parazity infikujúce cicavce a článkonožce. Baktérie z tejto čeľade sú prenášané článkonožcami, *Coxiella burnetii* sa môže prenášať aj mliekom alebo vdýchnutím.





**Obr. 128. *Rickettsia rickettsii*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/86/Rickettsia\\_rickettsii.jpg](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 (u Q-horúčky vyrážka nie je prítomná). Protilátky sú protektívne k reinfekcii. Baktérie z rodu *Rickettsia* sa nachádzajú voľne v cytoplazme infikovaných buniek, Coxielly a Ehrlichie sa množia v cytoplazmatických vakuolách. Rochalimiey sa množia na povrchu eukaryotických buniek, ak sú fagocytované, rýchlo hynú.

### 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.

Baktérie z rodu ***Ehrlichia*** sú zodpovedné za vznik **ľudskej monocytovej ehrlichiozy a granulocytovej ehrlichiozy** s horúčkou, bolesťami hlavy a svalov, vyrážkou. U väčšiny pacientov je prítomná leukopénia, trombocytopénia a zvýšené sérové transaminázy. Vektorom prenosu je **kliešť**.

***Coxiella burnetii*** môže byť prítomná v nepasterizovanom mlieku a v mliečnych výrobkoch, alebo sa prenáša inhalačne. Vyvoláva **Q-horúčku** s nešpecifickými príznakmi podobnými chrípke, u niektorých pacientov sa vyvíja hepatitída alebo pneumónia. Chronická forma ochorenia postihuje pacientov s predisponujúcimi faktormi, napríklad u ľudí s poškodením srdcových chlopní sa môže prejaviť ako subakútna endokarditída.

***Bartonella bacilliformis*** spôsobuje **Oroyskú horúčku** so závažnými prejavmi hemolytickej anémie a benígne nodulárne kožné efluorescencie (**Verruca peruana**).

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

***Bartonella henselae*** je zodpovedná za **chorobu z mačacieho poškriabania** (cat-scratch disease). Ochorenie sa prejavuje ako angiomtózne postihnutie kože, lymfatických uzlín a sleziny.



**Obr. 129. Choroba z mačacieho poškriabania.**

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

### **Laboratórna diagnostika a liečba**

Priamy dôkaz je možný z bioptického materiálu imunofluorescenciou. Možná je aj izolácia na tkanivových kultúrach. Manipulácia je veľmi riskantná kvôli novej 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.

### **1.13.2 ČEĽAĎ: CHLAMYDIACEAE**

**Rod:** *Chlamydia*

**druh:** *trachomatis*

**Rod:** *Chlamydophila*

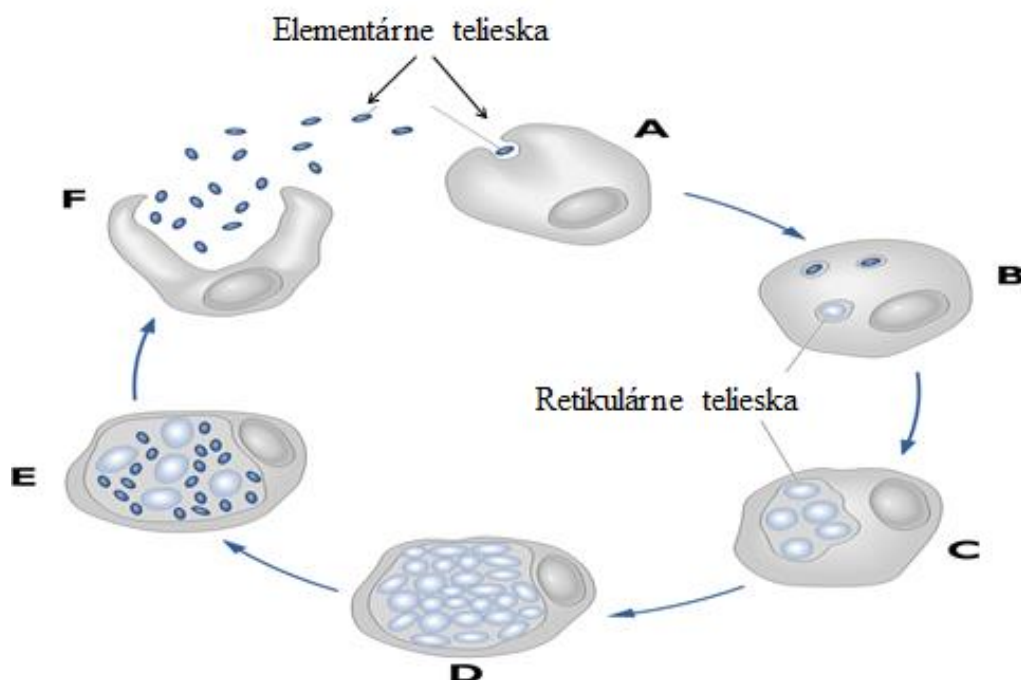
**druh:** *pneumoniae*  
*psittaci*

### **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. 130. Vývojový cyklus chlamýdií.**

[http://www.ppdictionary.com/bacteria/bwum/chlamydia\\_life\\_cycle.jpg](http://www.ppdictionary.com/bacteria/bwum/chlamydia_life_cycle.jpg)

### Patogénny potenciál a imunita

Elementárne infekčné telieska sa uchytia 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.

### 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 okulglandulárny 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**. Pneumónie je veľmi ťažké odlišiť od atypických pneumónií vyvolaných mykoplazmami alebo legionelami.

*Chlamydomphila psittaci* vyvoláva psitakózu, infekciu prenosnú od vtákov. Ochorenie postihuje respiračný trakt, pečeň a slezinu, zriedkavo myokard.



**Obr. 131. Lymphogranuloma venereum (LGV).**

<http://www.huidziekten.nl/afbeeldingen/soa/soalgv2.jpg>

### Laboratórna diagnostika a liečba

Jódové 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.

### 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 ochorenia vyvolávajú bartonely?
6. Aké sú charakteristické vlastnosti chlamýdií?
7. Opíšte rastový cyklus chlamýdií.
8. Aké ochorenia vyvolávajú chlamýdie?
9. Aké sú metódy laboratórnej identifikácie chlamýdií?
10. Ako sa liečia infekcie vyvolané chlamýdiami?

## 1.14 Acidorezistentné baktérie

Pre skupinu acidorezistentných baktérií je typická prítomnosť charakteristických masných kyselín. Mykobaktérie obsahujú mykolové kyseliny so 70 - 90 uhlíkmi, nokardie majú kratšie reťazce mykolových kyselín (41-56 uhlíkov) a sú označované aj ako čiastočne acidorezistentné.

### Mykobaktérie

**Rod:** *Mycobacterium*

**druh:** *tuberculosis*  
*leprae*

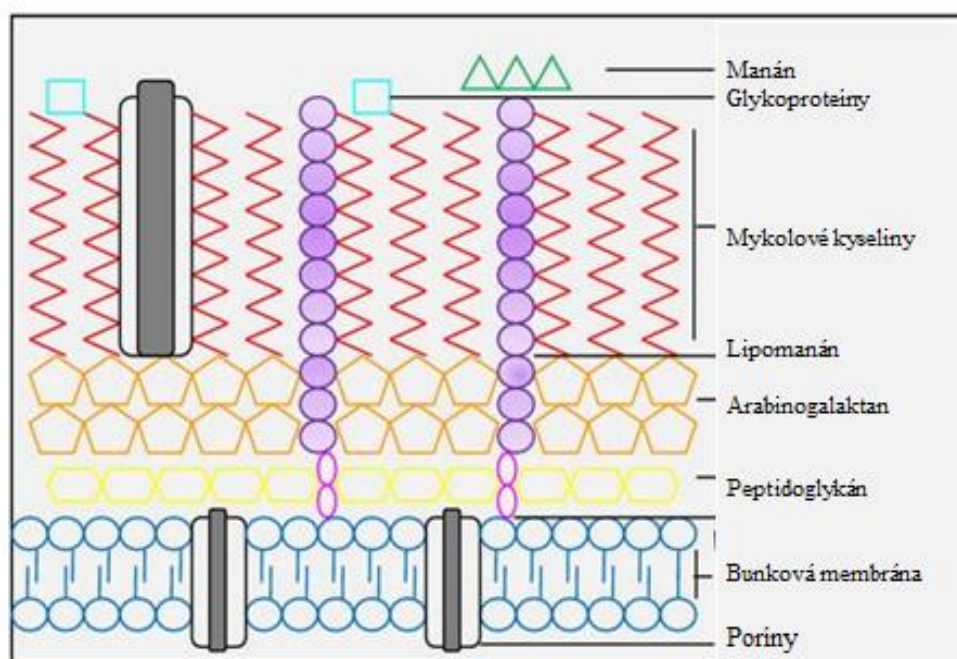
## *Mycobacterium tuberculosis*

### Charakteristika

Mykobaktérie sú acidorezistenté paličky (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 (bacil Calmette-Guérin). Ostatné mykobaktérie, v odbornej literatúre označované aj ako **netuberkulózne mykobaktérie**, sú rozdelené na základe Runyonovej klasifikácie.



**Obr. 132. *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*)

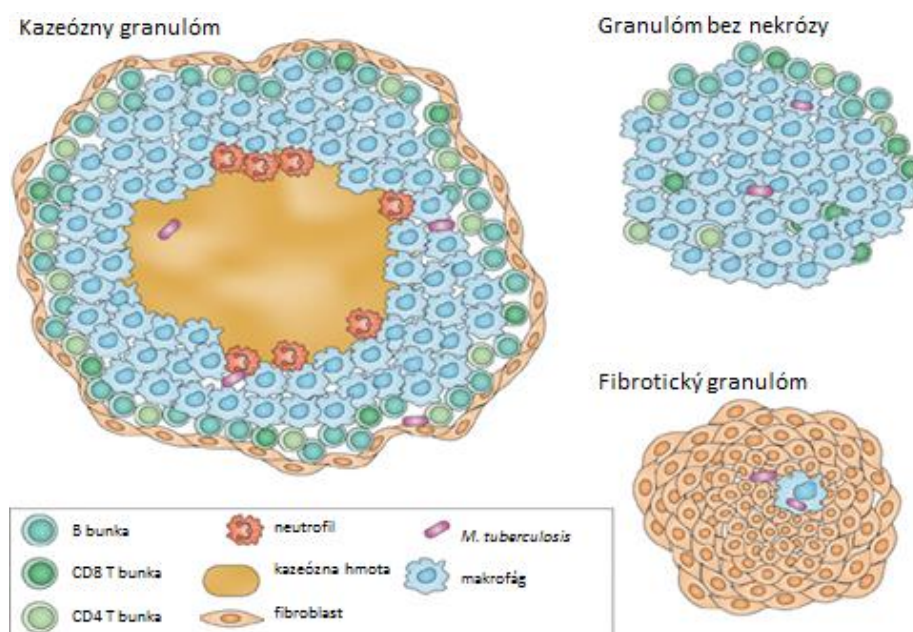
**IV. skupina - rýchlorastúce nepigmentované** (*M. fortuitum*, *M. chelonae*,

*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- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 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  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), ktorý stimuluje ďalšiu aktiváciu makrofágov. Celý proces vedie k zvýšeniu intracelulárneho zabíjania, vytvárajú sa granulómy, pričom efektívnosť 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. 133. *M. tuberculosis* – štruktúra granulómov.**

[http://www.nature.com/nrmicro/journal/v7/n12/fig\\_tab/nrmicro2236\\_F3.html](http://www.nature.com/nrmicro/journal/v7/n12/fig_tab/nrmicro2236_F3.html)

### Ochorenia

Prameňom infekcie je najčastejšie človek chorý na TBC, menej často zvieratá (hovädzí dobytok). 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 ochorenie 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 zaraďujeme 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 selektívne pôdy (vaječné), tuhé aj tekuté s pridaním antibiotík. Odber musí byť správny a opakovaný. Materiál sa dekontaminuje, zahusťuje. Rastú v charakteristických karfiolovitých kolóniách alebo vo forme sedimentu alebo blanky v tekutých pôdach. Atypické mykobaktérie sa identifikujú podľa typu kolónii, 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. 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 lepy 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

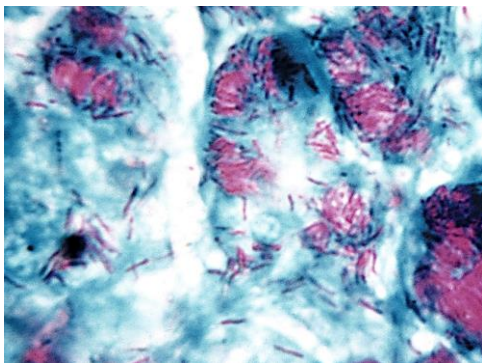
mykobaktérií a vyhodnotiť citlivosť na základné antituberkulotiká v priebehu 10 - 14 dní. Molekulárno-biologické metódy skracujú čas potvrdenia prítomnosti patogéna vo vyšetrovanej vzorke, jeho identifikáciu a profil citlivosti na niekoľko hodín. V súčasnosti sa využíva niekoľko známych metód, ktoré sú schopné identifikovať 16 druhov mykobaktérií a potvrdiť rezistenciu na 2 najdôležitejšie antituberkulotiká - rifampicín a isoniazid - a tým diagnostikovať MDR-TB.

Povinné ochranné očkovanie **BCG vakcínou** bolo u nás nariadené zákonom od r. 1953. 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. Očkovaní sú novorodenci najskôr 4. deň po narodení. Opakovaná BCG vakcinácia (revakcinácia) je povinná u tuberkulín-negatívnych pacientov po dosiahnutí 10. roku života.

### *Mycobacterium leprae*

#### Charakteristika

*Mycobacterium leprae* (**Hansenov bacil**) je intracelulárna, pleiomorfná, pomaly rastúca acidorezistentná palička s charakteristickou bunkovou stenou tvorenou voskovými lipidmi. Je nekultivovateľná na umelých kultivačných médiách.



Obr. 134. *M. leprae*.

<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 imunitnou reakciou.

#### Ochorenie

Lepra patrí k menej infekčným ochoreniam pretože asi 95 % populácie je prirodzene imúnnych voči tomuto ochoreniu. Viac ako 85 % klinických prípadov je neinfekčných a infekčné prípady sa stávajú neinfekčnými v priebehu niekoľkých týždňov po nasadení terapie. Typickým znakom 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 amputácii postihnutých častí tela. Veľmi často dochádza aj k strate žmurkacieho reflexu, čo vedie k celkovej slepote. Lepra sa na základe symptómov rozdeľuje na:

**1. Tuberkuloidnú lepru, paubacilárnu** - nie je infekčná, postihuje malé množstvo ohraňovaných plošných ložísk. Cit v oblasti škvŕn je redukovaný alebo chýba, pokožka je suchá. Táto forma rýchlo reaguje na liečbu.



**Obr. 135. Tuberkuloidná lepra – hypopigmentovaná kožná lézia.**

<http://www.stanford.edu/group/parasites/ParaSites2005/Leprosy/clinical.htm>

**2. Lepromatóznu formu, multibacilárnu** – infekčná, s histologicky dokázateľnými mykobaktériami. Vyskytuje sa množstvo rozličných kožných škvŕn, prítomnosť uzlovitých infiltrátov, zdurení periférnych nervov, tvorba vredov a deformít. Reakcia na liečbu je pomalá, poškodenie nervov a paralýza sa objavuje neskôr.

**3. Hraničnú lepru** (borderline lepra) - kombinácia oboch typov. Môže prevládať buď jeden alebo druhý typ.



**Obr. 136. 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 Ziehl-Neelsenovou metódou a 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 (SZO, WHO) odporúča kombinovanú (multiliekovú) terapiu, ktorá môže úplne vyliečiť tuberkuloidnú formu v priebehu 6 mesiacov a lepromatóznu formu do 2 rokov. Multilieková terapia pozostáva z 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

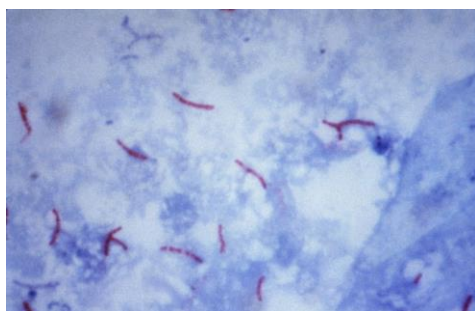
*M. avium* a *M. intracellulare* vyvolávajú ochorenia u zvierat, niektoré sú prenosné na človeka a spôsobujú infekcie hlavne u imunokompromitovaných pacientov. *M. bovis*, *M. kansasii* vyvolávajú ochorenia takmer identické s pľúcnou tuberkulózou, *M. scrofulaceum* postihuje lymfatické tkanivo. Primárne 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.

### 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 karbolfuchsínu 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. 137. *M. tuberculosis* – farbenie podľa Ziehl-Neelsena.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/71/Mycobacterium\\_tuberculosis\\_Ziehl-Neelsen\\_stain\\_02.jpg](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 tuberkulózne infekcie. Jeho interpretácia je ale komplikovaná post vakcinačnou imunitou (BCG vakcinácia). Špecifická a senzitivita vyšetrenia vzhľadom k postvakcinačnej imunite je nízka. Stretávame sa s falošne pozitívnymi výsledkami (po BCG vakcinácii, infekcií atypickými mykobaktériami, patologicky zmenenou kožou, atď.) ale aj s falošne negatívnym výsledkom tuberkulínového testu napr. po prekonanej vírusovej infekcii alebo očkovaní živou vírusovou vakcínou, po imunosupresívnej/kortikosteroidnej liečbe, pacienti s HIV, atď. Intradermálna aplikácia purifikovaného proteínového derivátu bunkovej steny (tuberkulínu) vyvolá induráciu s erytémom. Podľa veľkosti indurácie sa odliší anergizmus (bez reakcie), normoergická reakcia (antiinfekčná imunita), hyperergická reakcia (nedávna alebo súčasná expozícia *M. tuberculosis*).



**Obr. 138. Tuberkulínový test – meranie indurácie.**

[http://www.healthunit.org/infectious/tb/tb\\_test.htm](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- $\gamma$ ), produkovaného senzibilizovanými T-lymfocyty, 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 INF- $\gamma$  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 špecificita sú nepomerne vyššie ako v tuberkulínovom teste; senzitivita sa odhaduje na 89 %, špecificita až na 98 %.

**Rod:** *Nocardia*

**druh:** *asteroides*

### **Charakteristika**

*Nocardia asteroides* je grampozitívna (až gramlabilná), aeróbna, čiastočne acidorezistentná baktéria. Základným tvarom sú vlákna, ktoré vytvárajú pseudomycélium. To sa postupne rozpadáva, vznikajú kokovité alebo paličkovité elementy. V bunkovej stene obsahuje kyselinu mykolovú, je príbuzná s mykobaktériami.



**Obr. 139. Nocardia asteroides – farbenie podľa Grama.**

[http://int-prop.lf2.cuni.cz/heart\\_sounds/h13/nocar13.html](http://int-prop.lf2.cuni.cz/heart_sounds/h13/nocar13.html)

### **Patogénny potenciál a imunita**

Baktérie vstupujú do ľudského tela inhaláciou alebo inokuláciou 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

Ochorenie 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 identifikácia možných anaeróbných baktérií a húb v abscese. 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.

### Príbuzné baktérie

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*).

### 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 využívajú hostiteľské bunky na svoju vlastnú replikáciu a vyvolávajú zmeny v hostiteľských bunkách. Vírusmi indukovaná bunková smrť, zmeny v antigenicite a odpoveď hostiteľa na prítomnosť vírusu vedú k manifestácii 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 ikosahedrálnu, 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 redukujú 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 dvojitá  
nesegmentovaná alebo segmentovaná  
lineárna alebo cirkulárna

### **Štruktúra viriónu:**

symetria – ikosahedrál, helikál, komplexná  
obalený alebo neobalený  
počet kapsomér

Baltimorská klasifikácia vírusov je založená na type nukleovej kyseliny, kompozícii vírusového genómu a na hlavných krokoch replikácie a exprese genómu.

### **Vírusová infekcia**

#### **1. Adsorpcia – 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).

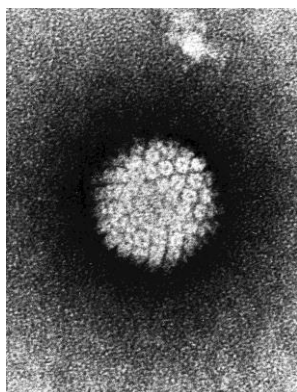
## 2.1 DNA vírusy

### 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.



**Obr. 140. HPV.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c4/Papilloma\\_Virus\\_%28HPV%29\\_EM.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c4/Papilloma_Virus_%28HPV%29_EM.jpg)



### 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.

### 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 intrepiteliálnej neoplázie (CIN I), cez neopláziu CIN II až po carcinoma in situ, jednotlivé stupne sa vyskytujú v časovom rozmedzí jedného až štyroch rokov.



Obr. 141. Kožné bradavice.

[http://www.bipai.org/educational-resources/aidsatlas.aspx?id=629&ekfxmen\\_noscript=1&ekfxmense1=e9edebdfa\\_14\\_18](http://www.bipai.org/educational-resources/aidsatlas.aspx?id=629&ekfxmen_noscript=1&ekfxmense1=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 regredujú spontánne, môžu byť odstránené chirurgicky (kryoterapia, elektroauterizácia) 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

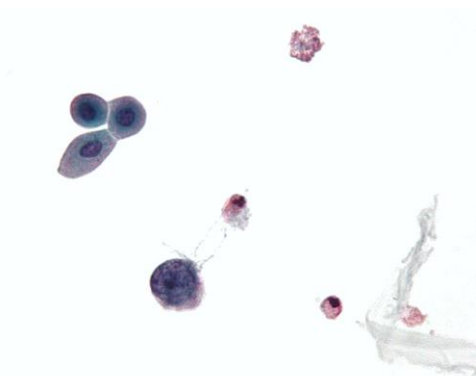
Vírusy pravdepodobne vstupujú do respiračného traktu alebo do tonzíl, infikujú lymfocyty a obličky s minimálnym cytopatickým efektom. BK vírus vyvoláva latentnú

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** pacientov po transplantácii obličiek a **hemoragickej cystitídy** u pacientov po transplantácii kostnej drene. **Subakútna demyelinizujúca progresívna multifokálna leukoencefalopatia** 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. 142. 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 biopsických vzorkách pomocou PCR a imunofluorescencie.

### 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 hemagglutíníny. 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. 143. Adenovírus – elektrónová mikroskopia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0d/Adenovirus\\_4.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0d/Adenovirus_4.jpg)

### 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**.

### 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.

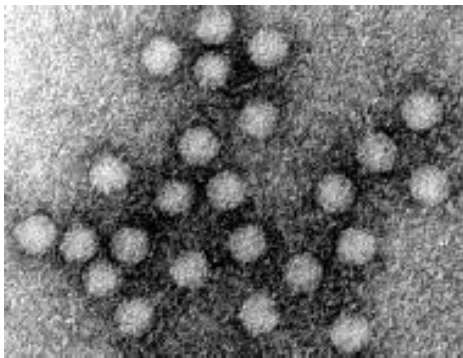
### Parvovírusy

#### Charakteristika

Parvovírusy sú najmenšie DNA vírusy, neobalené, s ikosaedrálnou symetriou. Ľudské ochorenia vyvoláva parvovírus B19, ktorý obsahuje jednovláknovú lineárnu DNA. Replikuje sa v mitoticky aktívnych bunkách (bunky kostnej drene, erytroidné bunky fetálnej pečene).

#### 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. 144. Parvovírus – elektrónová mikroskopia.**

<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).

### 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.

### 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 sú 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

## Herpes simplex 1 a 2

### 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 syncýciá), 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. 145. 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 syncíí 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.

### **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 syncíiá. 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 senzorických 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. 146. Ovčie kiahne – kožné prejavy.**

<http://varicellazoster.net/chicken-pox.html>



## Epstein - Barrovej vírus (EBV)

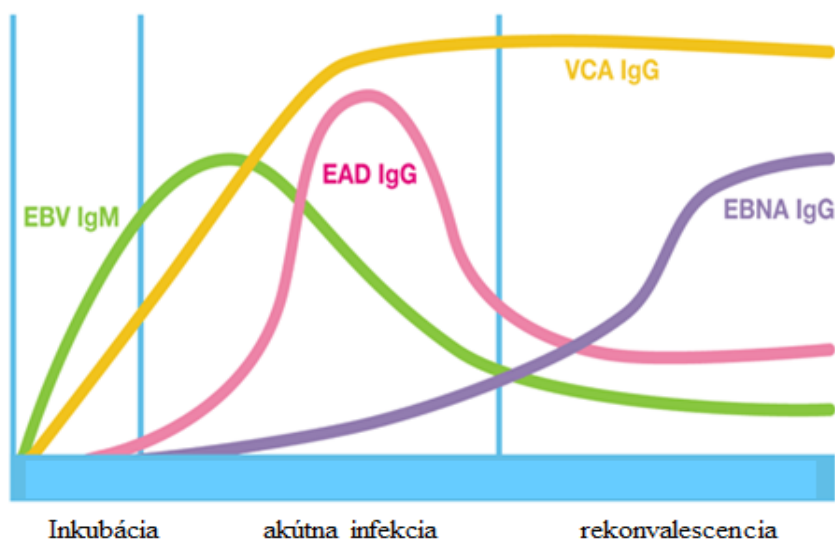
### Charakteristika

EBV patrí medzi herpesvírsky. Pri štúdiu antigénnej štruktúry boli identifikované antigény, ktoré sa využívajú v špecifickej diagnostike:

- včasný antigén (**EA**),
- membránový antigén (**MA**),
- antigén 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.



**Obr. 147. Infekčná mononukleóza – vývoj protilátkovej odpovede.**

<http://www.bio-rad.com/en-us/product/other-serology/epstein-barr-virus-infectious-mononucleosis>

### 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 antigénemu 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.

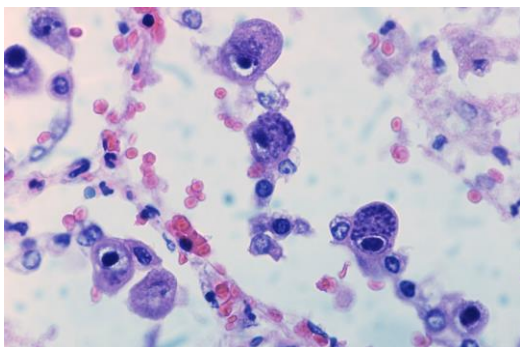
## Cytomegalovírus (CMV)

### 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 transplantácii 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. 148. 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](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, ktorý majú problémy v dôsledku infikovania CMV sa používajú antivírusové preparáty Ganciclovir (Cytovene) a foscarnet.

## HHV 6 a HHV 7

### Patogénny potenciál a imunita

Tieto betaherpesvírusy patria do rodu *Roseolovirus*, HHV 6 je lymfotropný, boli izolované od pacientov s AIDS. Vírusy 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

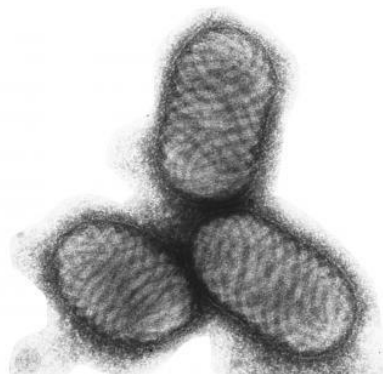
Diagnóza sa stanovuje spravidla na základe klinického priebehu, v sporných situáciách (hlavne pri nutnosti odlíšenia novej alergickej vyrážky) je možné vyšetrenie protilátok proti obojom vírusom. Roseola zvyčajne nevyžaduje medikamentóznú liečbu.

### 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 pre expresiu 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, multiplokačný 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. 150. Poxvírus – elektrónová mikroskopia**

<http://www.knowledgescotland.org/briefings.php?id=194>

### **Patogénny potenciál a imunita**

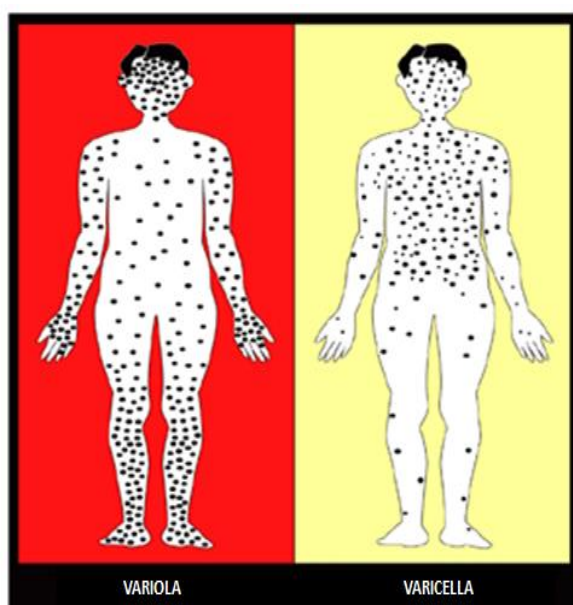
Vírus varioly vstupuje do inhalačnou cestou, replikuje sa v horných dýchacích cestách, diseminuje do lymfatického a krvného systému. Poškodenie vnútorných orgánov a kože je vyvolané sekundárnou virémiou, ktorá je oveľa intenzívnejšia. Vírus molluscum contagiosum a ostatné poxvírusy sa prenášajú priamym 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**

Táto infekcia 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.

Vírus vakcínie vyvolával komplikácie po očkovaní – encefalitídu a progresívnu infekciu vaccinia necrosum.



**Obr. 151. Charakteristická distribúcia vyrážky pri variole a varicelle.**

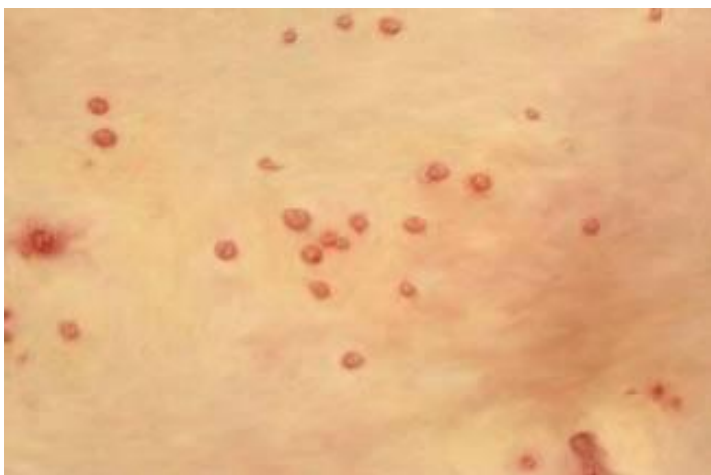
<http://www.bt.cdc.gov/agent/smallpox/images/smpxman1.gif>

### **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.

### **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 .



**Obr. 152. Molluscum contagiosum.**

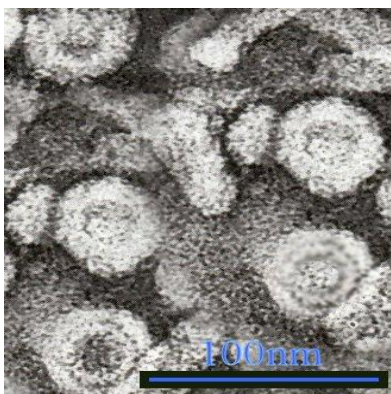
<http://www.alphaderm.ca/clinical-molluscum-contagiosum.asp>

### **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. 153. Vírus hepatitídy B.**

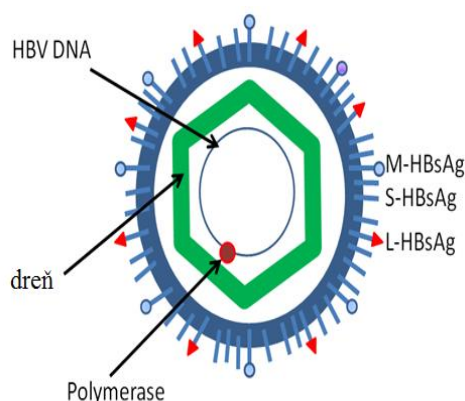
[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/36/Hepatitis\\_B\\_virus\\_1.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/36/Hepatitis_B_virus_1.jpg)



### 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. 154. 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-lymfocytom.

### Ochorenia

VHB vyvoláva akútnu alebo chronickú, perzistujúcu infekciu pečene, ktorá môže viesť k rozvoju cirhózy lebo rakoviny pečene a zapríčiniť tak smrť pacienta. Pacienti z chronickou infekciou sú zdrojom 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 delta (VDH). Podľa svetovej zdravotníckej organizácie, až 80% pacientov s primárnym hepatocelulárnym karcinómom má potvrdenú chronickú hepatitídu B.



## 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 molekulárnobiologické. Biochemické testy poukazujú na zvýšenú aktivitu pečeňových 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.

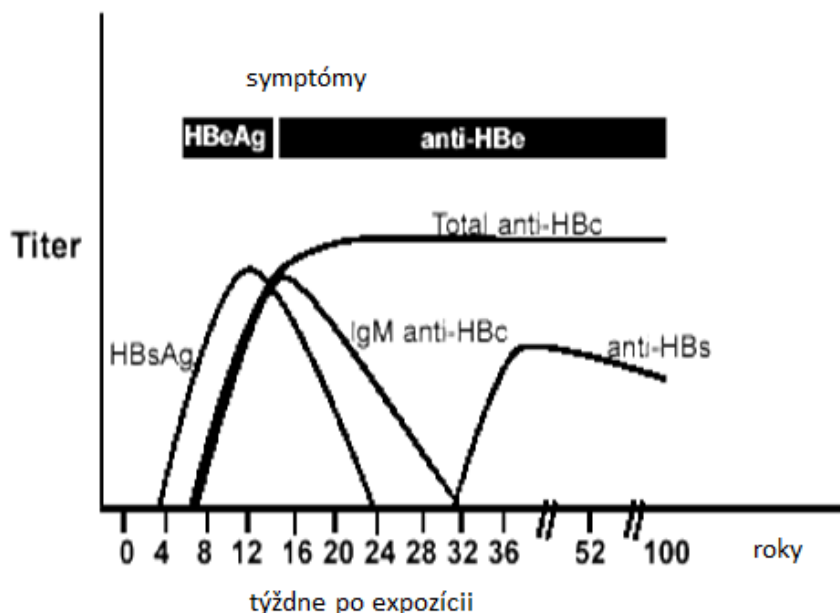
- **anti-HBc** - sú protilátky proti antigénu jadra vírusu a objavujú sa krátko po HBsAg a dosahujú maximum počas akútnej fázy pred nástupom anti-HBs. Môžu byť dvojakého typu:

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. 155. Vývoj protilátkovej odpovede po infekcii vírusom hepatitídy B.**

<http://www.thebody.com/content/art12963.html>

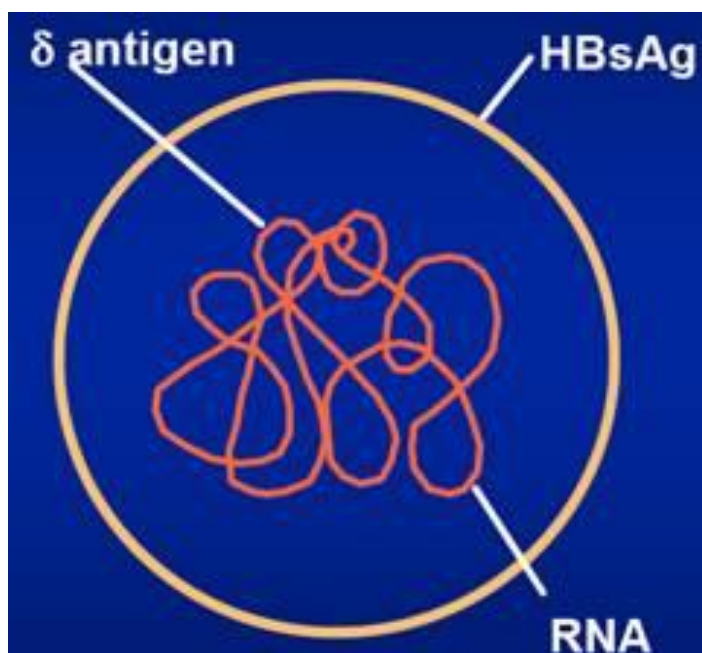
Na vyšetrenie sa používa metóda ELISA a chemiluminiscenčná metóda. Na zaradenie pacienta do terapie a sledovanie účinnosti liečby sa využíva kvantitatívny test PCR, ktorý vypovedá o tom, koľko kópií vírusu je v 1 ml krvi. Liečba akútnej hepatitídy B je len symptomatická - má podporný charakter. Dôležitá 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 pôsobia tak, že sa snažia obmedziť množenie vírusu v bunke tým, že blokujú niektorý vírusový enzým, čo je možné len do určitej miery. Sú veľmi drahé, a preto sa používajú len pri systémových vírusových infekciách (postihujúcich celé telo a viac orgánov).

---

\* **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. 155. 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. Prevenciou infekcie VHB je súčasne prevenciou koinfekciu delta antigénom. Prevencia superinfekcie nie je možná.

### OTÁZKY

1. Kde prebieha replikácia genómu herpesvírusov?
2. Aké sú charakteristické vlastnosti herpesvírusov? 3.
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.

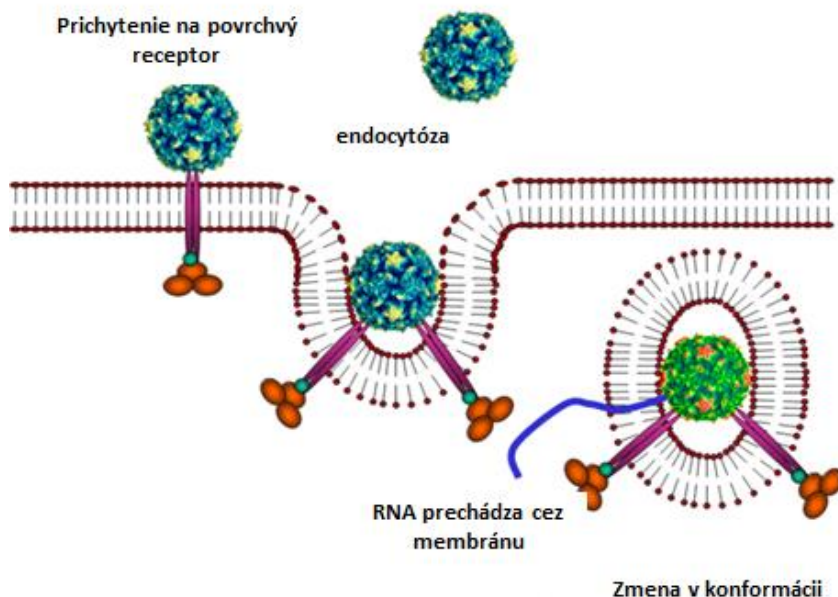
## 2.2 RNA vírusy

### 2.2.1 Neobalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou

#### *Picornaviridae*

#### Charakteristika

Nukleokapsida picornavírusov má ikosahedrálnu 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. 156. Picornavírusy – prichytenie a vstup RNA do bunky.**

<http://pathmicro.med.sc.edu/virol/pol12.gif>

### Enterovírusy

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*.

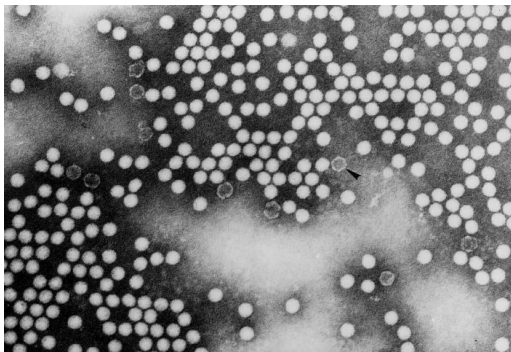
### Patogénny potenciál a imunita

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). Enterovírusy sa vylučujú sa stolicou.

### 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 parálzou bez straty senzorického vnímania. Vážnejšou formou je **bulbárna poliomyelitída**, ktorá postihuje svaly faryngu, hlasiviek 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. 157. Poliovírus typ 1 – transmisná elektrónová mikroskopia.**

<http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/polio.jpg>

### 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**“ chorobu vyvoláva Coxackievírus A16, prejavuje sa tvorbou vezikulárnych lézií na rukách, chodidlách, ústach a na jazyku.



**Obr. 158. „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 ostrovčekov. 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.

### Rhinovírusy

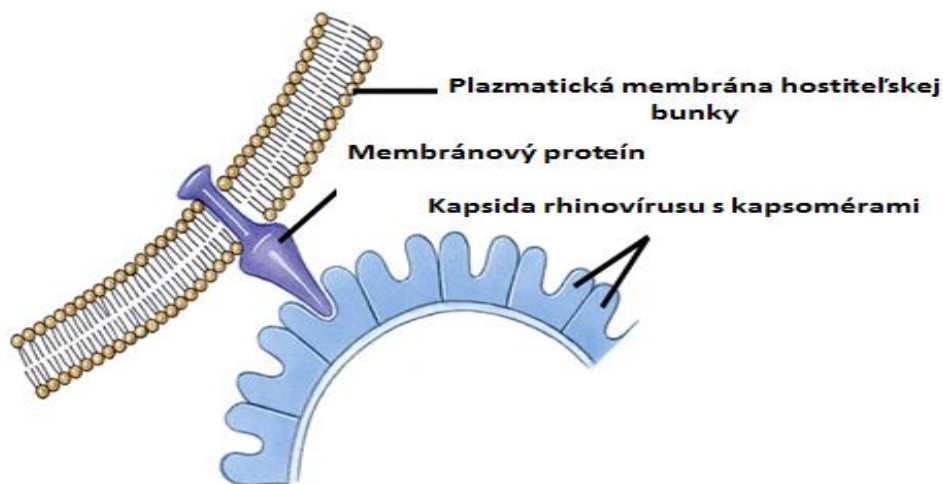
Doteraz bolo identifikovaných najmenej 100 rôznych sérotypov rhinovírusov, viac ako 80% z nich využíva rovnaké receptory ako coxackie vírusy (ICAM-1). Rhinovírusy sa nereplikujú v gastrointestinálnom trakte, sú labilné v kyslom prostredí, najlepšie sa množia pri teplote 33° C.

### 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. 158. Prichytenie rhinovírusu na proteíny cieľovej bunky.**

[http://www.ppdictionary.com/viruses/rhinovirus\\_attachment.jpg](http://www.ppdictionary.com/viruses/rhinovirus_attachment.jpg)

### Ochorenia



Infekcia sa prejavuje ako nádcha, niekedy sprevádzaná miernou bolesťou hrdla, bolesťami hlavy a únavou.

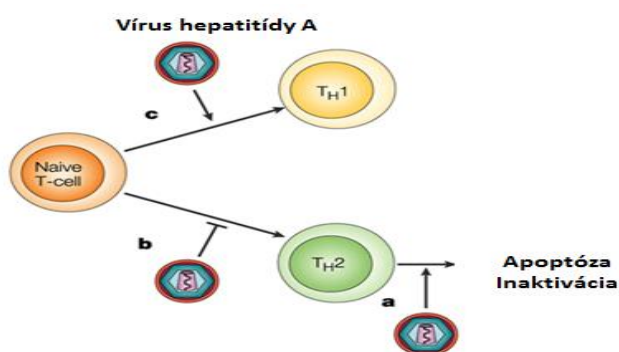
### Laboratórna diagnostika a liečba

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 pečenejším 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. 159. 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](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 pečenejších 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, nechť k masným jedlám, chudnutie), u časti pacientov dominuje obraz mnohopočetného postihnutia kĺbov. Vzácné 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 pečenejšie 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 pečenevého karcinómu.**

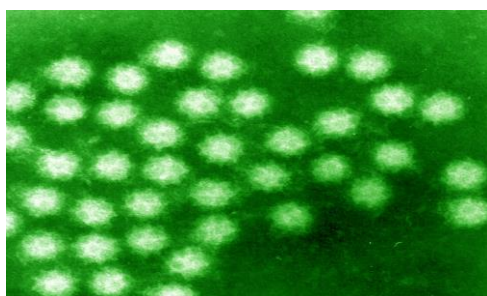
#### **Laboratórna diagnostika a liečba**

V rámci špecifickej virologickej diagnostiky sa najčastejšie využíva dôkaz tzv. včasných protilátok triedy IgM metódami enzýmovej imunoanalýzy (CMIA, ELISA, a pod.). Tieto protilátky sú obvyčajne detekovateľné už v 3. – 4. týždni po nákuze, 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.

#### ***Caliciviridae, Astroviridae***

##### **Charakteristika**

Calicivírusy (vrátane Norwalk vírusu) boli objavené v stolici osôb s epidemickou akútnou gastroenteritídou. Tieto neobalené vírusy majú jednovláknovú RNA pozitívnej polarity, sú odolné voči detergentom, vysušeniu a kyslému prostrediu. Vyvolávajú gastroenteritídy.



**Obr. 160. Ľudský calicivírus – elektrónová mikroskopia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/4/41/Human\\_Calicivirus.jpg](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**

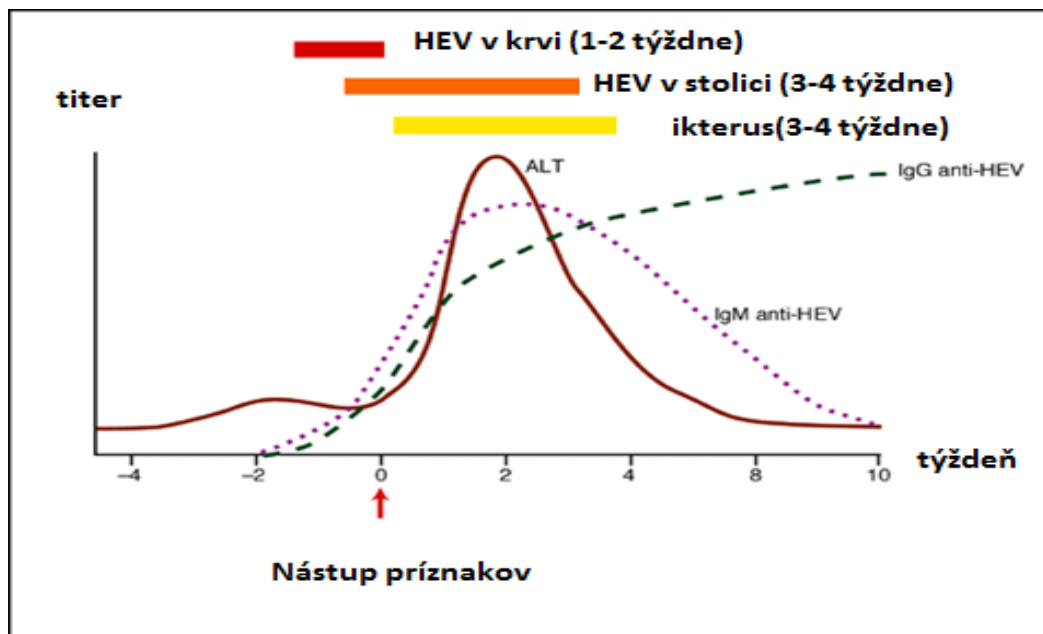
Medzi hlavné klinické príznaky infekcie calicivírusmi patrí hnačka, nauzea a vracanie, hlavne u detí. Jedna tretina pacientov má horúčku. Astrovírusy vyvolávajú hnačky bez vracania, infekcia postihuje častejšie dospelú populáciu.

##### **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. 161. Hepatitída E – vývoj klinických príznakov a protilátkovej odpovede.**  
<http://liveonearth.livejournal.com/504483.html>

## 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. Charakterizujte kalícivírusy a astrovírusy.
6. Ako sa prejavuje infekcia vírusom hepatitídy E?

## 2.2.2 Obalené jednovláknové RNA vírusy s pozitívnou polaritou

### *Flaviviridae*

#### Flavivírusy

##### Charakteristika

Flavivírusy (spolu s alphavírusmi) 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
- vírusy kliešťových encefalitíd

---

\*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.

### Ochorenia

Infekcie sú väčšinou benígne, môže sa však vyskytnúť závažná encefalitída alebo hemoragická choroba. Žltá zimnica je charakterizovaná systémovými prejavmi s poškodením obličiek, pečene (žltáčka), 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).

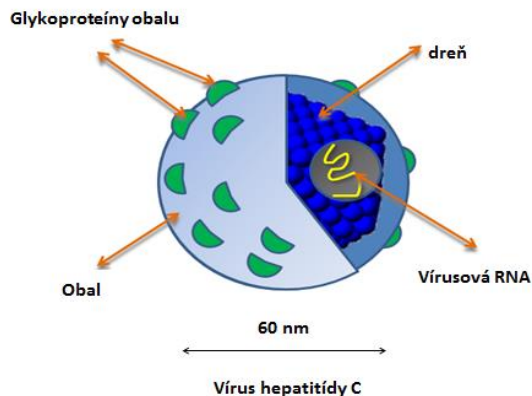
### Laboratórna diagnostika a liečba

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 sa množí v bunkách pečene (hepatocyty) 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. 162. Štruktúra vírusu hepatitídy C.**

[http://en.citizendium.org/images/9/96/HCV\\_structure.png](http://en.citizendium.org/images/9/96/HCV_structure.png)

## **Ochorenia**

Vírus hepatitídy C vyvoláva tzv. nonA- nonB 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 krvácanosťou (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, zdravotnícki 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 zväčšuje. 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.

## ***Togaviridae***

**Alphavirus** – EEE vírus, WEE vírus, VEE vírus

**Rubivirus** – Rubella vírus

**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.

## **Alphavírusy**

### **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. **Rubella vírus** má odlišnú cestu prenosu – prenáša sa respiračnou cestou, obvykle nevyvoláva detekovateľnú cytopatológiu. Prirodzeným hostiteľom tohto vírusu je len človek

### **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.

### **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 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. 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.

### **Rubivírus**

#### **Charakteristika**

Jediným zástupcom je vírus rubeoly, ktorý vyvoláva rubeolu (ružienku, German measles). Pred zavedením očkovania bola ružienka bežným benigným 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 pre 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 rubeolou s postihnutím oka, srdca a mozgu. Vírus perzistuje v tkanivách dieťaťa 3-4 roky a vylučuje sa počas jedného roka od narodenia.

### 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 i antivakcinačnú imunitu. Diagnostika intrauterinnej infekcie je možná z fetálnej krvi (dôkaz IgM protilátok), potvrdenie kongenitálnej infekcie umožňuje dôkaz IgM protilátok v pupečníkovej 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. 163. Rubeola.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Morbillivirus\\_measles\\_infection.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Morbillivirus_measles_infection.jpg)

### *Retroviridae*

**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 leukémie, 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 antiretrovirov. 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.

#### **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.

#### **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.

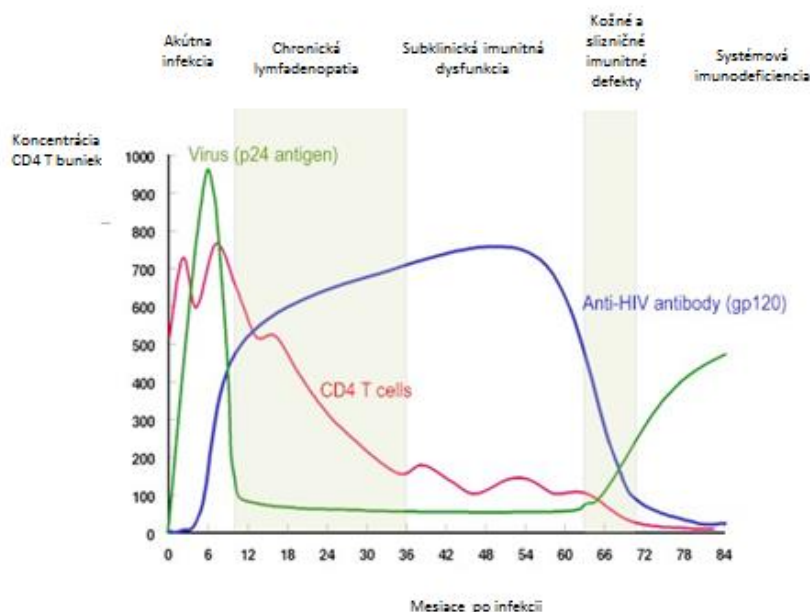
**Druhé štádium – HIV infekcia bez symptómov** – bezpríznakové (latentné) nosičstvo, môže trvať aj niekoľko rokov. Počas tohto štádia sa vírus pomaly množí v bunkách ľudského tela a postupne oslabuje imunitný systém.

**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)

### 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. 164. Infekcia vírusom HIV – koncentrácia CD4 T buniek a vývoj protilátkovej odpovede.**

[http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/hiv\\_time\\_course.jpg](http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/hiv_time_course.jpg)

## **Onkovírusy**

### **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.

### **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  $\alpha$ .

## ***Coronaviridae***

## **Coronavírusy**

### **Charakteristika**

Sú to obalené vírus s pozitívnou 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 rinovírusov 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 jarých 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.

## OTÁZKY

1. Aké sú základné charakteristiky flavivírusov?
2. Vymenujte flavivírusy prenášané hmyzom. Ktoré ďalšie vírusy zaradíme medzi flavivírusy?
3. Aká je patogenéza hepatitídy C?
4. Ako sa diagnostikuje hepatitída C?
5. Ktoré vírusy zaradíme medzi togavírusy?
6. Ktoré ochorenia vyvolávajú alfavírusy?
7. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia rubeoly?
8. Ktoré vírusy zaradíme medzi retrovírusy?
9. Aké sú základné charakteristiky vírusu HIV?
10. Aká je patogenéza a klinická symptomatológia AIDS?
11. Aká je laboratórna diagnostika infekcie vyvolanej HIV?
12. Ktoré vírusy zaradíme medzi onkovírusy a aké ochorenia tieto vírusy vyvolávajú?
13. Charakterizujte koronavírusy a infekcie, ktoré vyvolávajú.

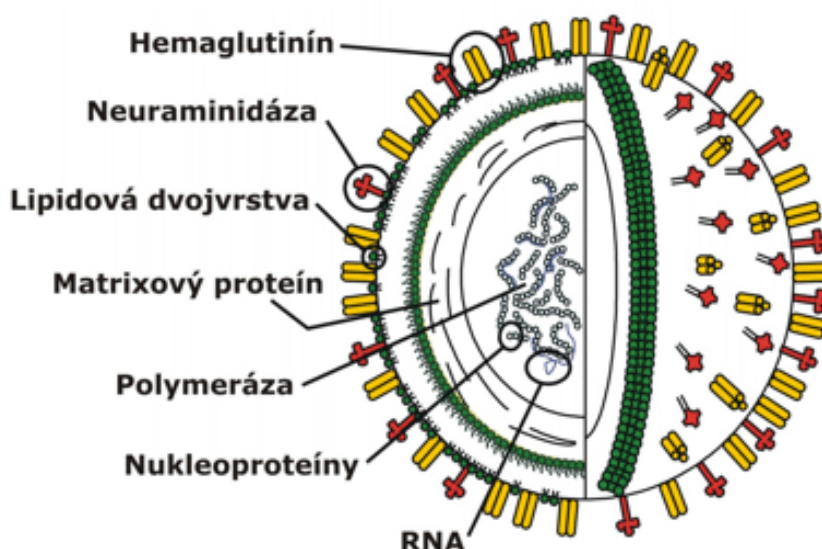
## 2.2.3 Obalené jednovláknové RNA vírusy s negatívnou polaritou

### *Orthomyxoviridae*

#### Influenza vírus A, B, C

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. 165. Štruktúra vírusu chrípky.**

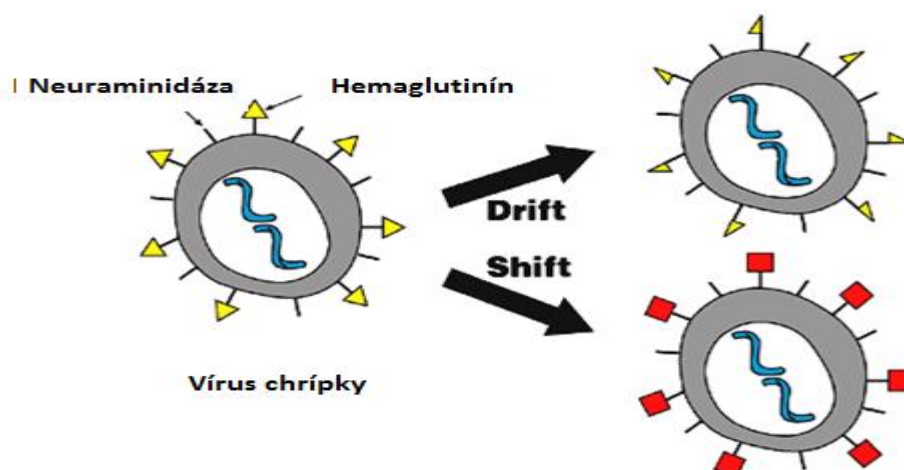
<http://www.epis.sk/InformacnaCast/Temy/Chripka/OChripke.aspx>

### **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 hemagglutinínov 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. 166. Antigénny drift a antigénny shift.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/ca/Antigenic\\_drift\\_vs\\_shift.png](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 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 H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> 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 (potenciálne) 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 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 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 súvisiacim opatrením 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.

### 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 hemaglutinácie. 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 ochorenia počas nasledujúcej chrípkovej sezóny.

### *Paramyxoviridae*

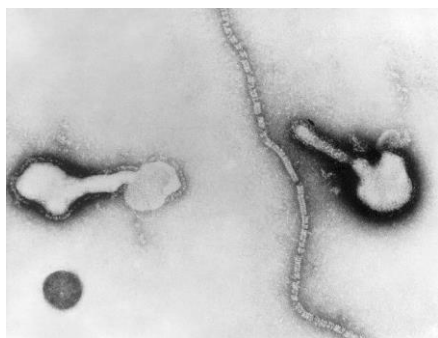
#### Charakteristika

Vírusy z čeľade 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 dvojvrstvové 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. 167. Parainfluenza vírus – transmisná elektrónová mikroskopia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f9/Parainfluenza\\_virus\\_TEM\\_PHIL\\_271\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f9/Parainfluenza_virus_TEM_PHIL_271_lores.jpg)

## 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.

## Vírus parotitídy (Mumps vírus)

### Patogénny potenciál a imunita

Vírus sa vyskytuje v jedinom sérotype. Po prenose vírusu inhaláciou sa vírus replikuje vo faryngu a spojovke, dochádza k virémii a infikovaniu cieľových buniek žliaz (slinné žľazy, semenníky, vaječníky, pankreas) a nervového tkaniva (mozog). Sekrét 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.

## 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).

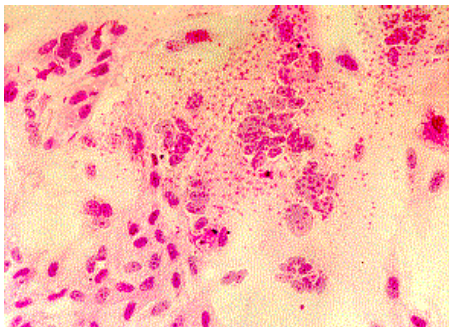


**Obr. 168. Opuch príušných žliaz pri parotitíde.**

<http://diyhealth.com/mumps-cases-rising-in-us.html>

## 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 imunofluorescenciou alebo PCR. Akútne ochorenie sa diagnostikuje klinicky, potvrdí sa prítomnosťou špecifických IgM protilátok. Znakom prekonaného ochorenia alebo postvákcinnej 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.



**Obr. 169. Vírus parotitídy – formovanie syncýcií.**

<http://virology-online.com/viruses/MUMPS.htm>

## **Vírus osýpok (Morbilli vírus)**

### **Patogénny potenciál a imunita**

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. 170. Exantém pri osýpkach.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Morbillivirus\\_measles\\_infection.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Morbillivirus_measles_infection.jpg)

### **Ochorenia**

Vírus vyvoláva akútne exantémové detské ochorenie, ktoré sa prejavujúce sa 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. 171. Koplikove škvrny.**

<http://www1.lf1.cuni.cz/~hrozs/elern01/morbili1.htm>

### **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 (Wartin Finkledayove bunky). Terapia ochorenia je symptomatická. Ochorenie je preventabilné, je dostupná vakcinácia živou očkovacou látkou v trojkombinácii (MMR).

### **Respiračný syncytiálny vírus (RSV)**

#### **Patogénny potenciál a imunita**

RSV vyvoláva lokálnu 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.

#### **Ochorenia**

Respiračný syncytiálny 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.

#### **Laboratórna diagnostika a liečba**

V priamej diagnostike je možné potvrdiť vírus v biologických vzorkách pomocou PCR, dostupné sú aj imunofluorescenčné 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.



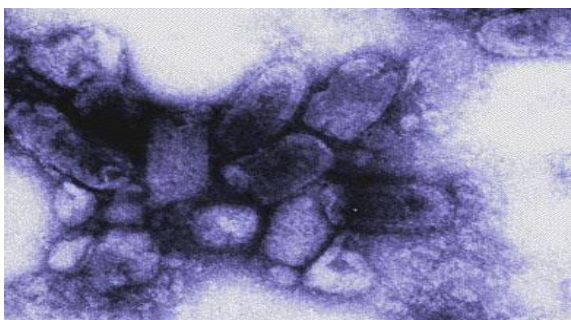
## ***Rhabdoviridae***

### **Lyssa virus**

#### **Vírus besnoty (Rabies virus)**

##### **Charakteristika**

Vírus besnoty je obalený, má tvar projektilu alebo paličky, génom vytvára jednovláknová lineárna nesegmentovaná 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 min. pôsobenia, teplotou 60 °C počas piatich minút.



**Obr. 172. Vírus besnoty.**

<http://www.wadsworth.org/rabies/rpix.htm>

Vírus inaktivuje aj UV žiarenie, tukové rozpúšťadlá, detergenty, lúhy, 1% deoxycholát sodný a trypsín. V roztoku glycerolu vydrží aktívny pri izbovej teplote aj niekoľko týždňov.

##### **Patogénny potenciál a imunita**

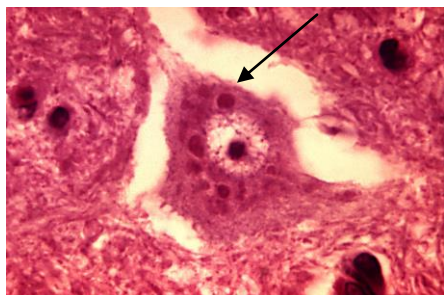
Cesta prenosu vírusu je priama (pohryzenie) alebo nepriama (konzumácia mäsa infikovaných zvierat, vzdušnou cestou - kvapôčkami slín, predmetmi znečistenými čerstvými slinami besných zvierat). Vírus sa replikuje vo svaloch v mieste vstupu (inkubačná fáza), dĺžka inkubácie súvisí s infekčnou dávkou a s 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 paralýzu, 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.

##### **Ochorenia**

Besnota je zoonóza, prvými symptómami sú horúčka, nepokoj, bolesti hlavy a parestézia v mieste uhryznutia. Charakteristická je hydrofóbia (zapríčiňuje ju bolesť pri prehltnutí vody), v neurologickej fáze ochorenia je prítomná dezorientácia, halucinácie, asi 60% pacientov má paralýzu, ktorá môže viesť k respiračnému zlyhaniu.

### Laboratórna diagnostika a liečba

Typický klinický obraz a anamnestické údaje o pohryzení alebo kontakte s infikovaným zvierateľom 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 postexpozičnej terapii. Neliečená besnota je smrteľná.



**Obr. 173. Negriho telieska.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Rabies\\_encephalitis\\_Negri\\_bodies\\_PHIL\\_3377\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Rabies_encephalitis_Negri_bodies_PHIL_3377_lores.jpg)

### *Filoviridae*

#### Vírus Ebola

#### Vírus Margburg

#### Charakteristika

Genóm filovírusov tvorí jednovláknová RNA, 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.



**Obr. 174. Vírus Ebola.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3f/Ebola\\_virus\\_em.png](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 hemorágie. Glykoproteíny vírusu inhibujú aktiváciu neutrofilov, blokujú funkcie protilátok a interferónu.

#### Ochorenia

Vírusy Ebola a Marburg vyvolávajú hemoragické horúčky s edémom a hypovolemickým šokom vyskytujúce sa 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 prebiehajú inaparentne (18% obyvateľstva má prítomné špecifické protilátky).

### Laboratórna diagnostika a liečba

Priama diagnostika je možná na základe izolácie vírusu na tkanivových kultúrach (vero bunky pre vírus Marburg), inokuláciou zvieratám (Ebola) alebo imunofluorescenciou. 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.

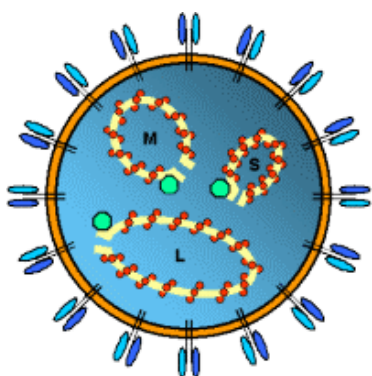
### *Bunyaviridae*

#### 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. Čeľad' *Bunyaviridae* zahŕňa rody: *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Uukuvirus*.

#### 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 – účinok reakcie T buniek. Hantavírusy nie sú prenášané hmyzom, šíria sa interhumánne aerosolom.



Obr. 175. 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.

### **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.

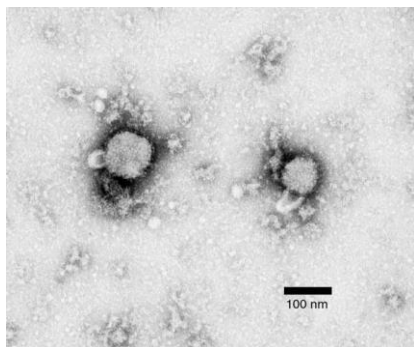
### ***Arenaviridae***

#### **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. 176. Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy – elektrónová mikroskopia.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b9/Lymphocytic\\_choriomeningitis\\_virus.jpg](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 (účinnok 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.

### **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 č. 3 (pre LCM) a stupeň č.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

### *Reoviridae*

#### **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***.

#### **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, bezmlečná 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).

#### **Othoreovírusy**

##### **Patogénny potenciál a imunita**

Táto skupina vírusov nevyvoláva závažné ochorenia u ľudí. Infekčné subvirálne partikuly (ISVP) sa viažu na M-bunky v tenkom čreve, ktoré prenesú vírusové častice do Peyerových plakov. Vírus sa replikuje, vzniká virémia. Ortoreovírusy sa vyskytujú v troch antigénnych typoch (1, 2, 3), ich odlišenie 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 (angl. Colorado tick fever). 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.

### **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 coltivírusy a orbivírusy?



## 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 odstraňujú vírus z organizmu prostredníctvom komplementu a ADCC. Cytotoxická 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 pozitivity IgM, alebo špecifickú imunitu – v prípade IgM negativity. Pozitívita 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, kontaminované 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 prejaviť 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 (postvakcinačné – 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 kolísať. 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.

	Hepatitída A	Hepatitída B	Hepatitída C	Hepatitída D	Hepatitída E
<b>Názov</b>	infekčná	sérová	nonAnonB postransfúzna	Delta Ag	Enterická nonAnonB
<b>Vírus</b>	Picorná,	Hepadna, obalený	Flavi, RNA	Viroid, RNA cirkulárna	Calicivirus- like, RNA
<b>Prenos</b>	fekálneoráln y	Parenterálne, sexuálne	Parenterálne, sexuálne	Parenterálne, sexuálne	fekálneorálny
<b>Nástup</b>	náhly	plíživý	plíživý	náhly	náhly
<b>Inkubačný čas</b>	15-50 dní	45-160	14-180	15-64	15-50
<b>Úmrtnosť</b>	0.5%	1-2%	0.5-1%	vysoká	1-2% tehotné 20%
<b>Chronicita</b>	nie	áno	áno	áno	nie
<b>Komorbidity</b>	nie	Cirhóza, Ca	Ci, Ca	Ci, fulminant	nie
<b>Lab. dg</b>	antiHAV	HBsAg	antiHCV	antiHDV	Anti HEV
<b>Závažnosť</b>	mierne	Mierne až ťažké	Subklinické	Koinfekcia superinf.HB	Mierne, tehotné ťažké

**Obr. 177. Vírusy hepatitíd – prehľad.**

## 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. Odoberatá 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 jednovrstevné tkaninové 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.

## 2.4 Prióny

### 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.

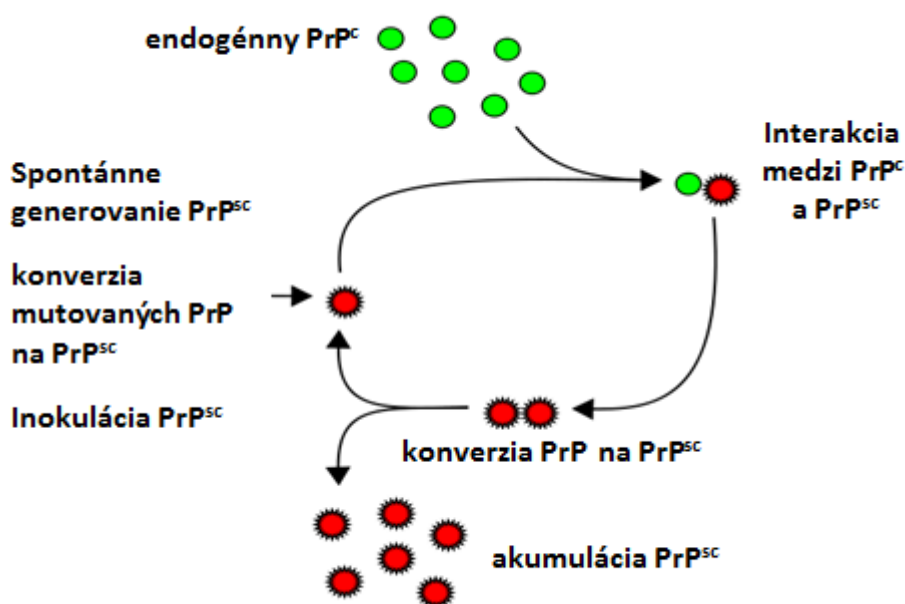
### Patogénny potenciál a imunita

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<sup>C</sup>**, 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<sup>Sc</sup>**. 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 zapríčiňujú **tau** proteíny a preto sa považuje za tauózu.

### Ochorenia

Choroby sa súhrnne označujú ako *prionózy* alebo *prenosné špongioformné 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 špongioformnú 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.



**Obr. 177. Model propagácie priónov.**

[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Prion\\_propagation.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Prion_propagation.svg)

### 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.

### 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?
5. Ako sa prenášajú prióny?
6. Aká je laboratórna diagnostika a liečba priónových infekcií?

### 3 HUBY (FUNGI)

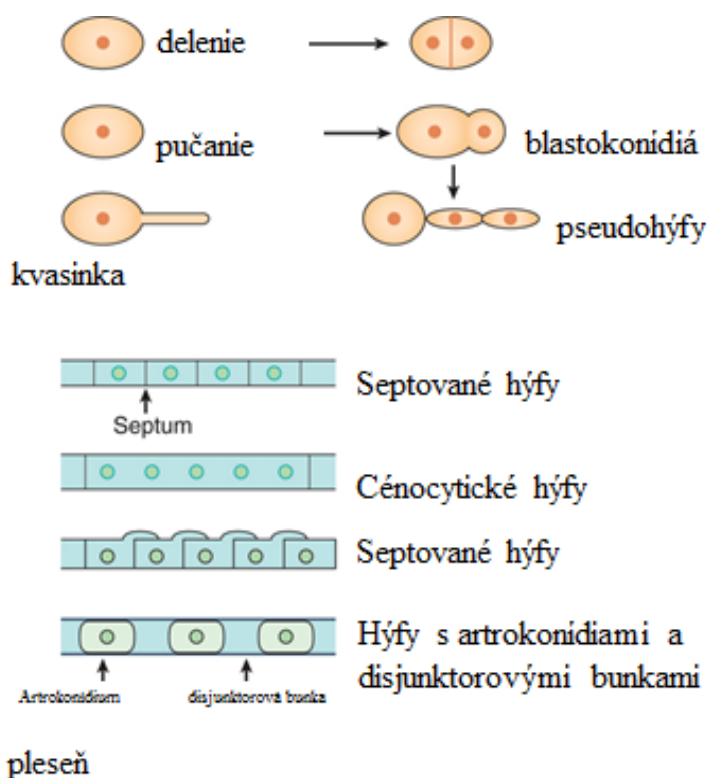
#### Charakteristika

Huby sú rôznorodá skupina eukaryotických mikroorganizmov. Ich bunková membrána obsahuje ergosterol, čo poskytuje možnosť pre selektívny zásah antimykotík. Väčšinou sú podmiennečne 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 vlákňité, mycéliové huby, zložené z vetvených vlákien (hýfy), ktoré sa predlžujú na koncoch a môžu byť mnohoadrové, céenocytické, 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.

**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. 178. Kvasinky a plesne.



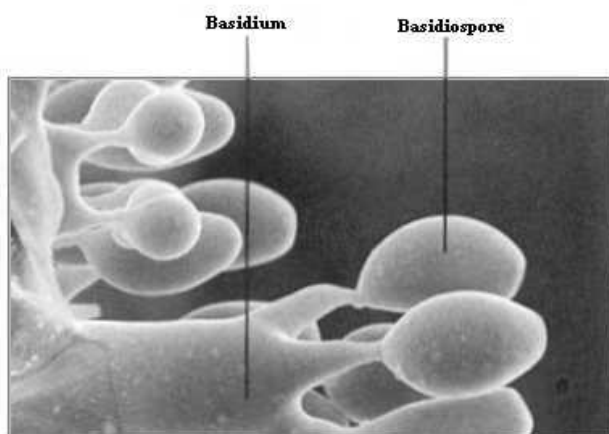
## Rozdelenie húb

### **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**

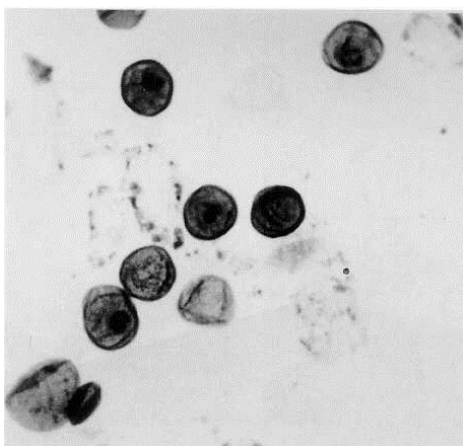
Vyskytujú sa ako vlákňité formy, niektoré ako kvasinky. Pri sexuálnej reprodukcii sa vytvárajú bazidiospóry, ktoré sú prítomné na bazídiách. Do tejto skupiny patria rody *Cryptococcus*, *Malassezia* a *Trichosporon*.



**Obr. 179. 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.

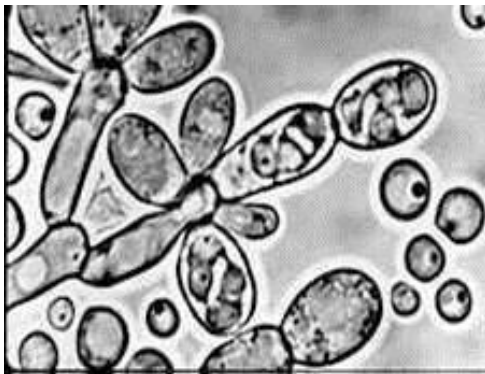


**Obr. 180. *Pneumocystis carinii*, farbenie podľa Gomoriho.**

<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. 181. Saccharomycetes.**

<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 a u imunokompromitovaných pacientov môže dôjsť k diseminovanej infekcii. 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 vyvolávajú 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

### 3.1 Laboratórna diagnostika mykóz

**Priama mikroskopická analýza** biologických vzoriek (primárne sterilných materiálov: krv, likvor, operačný materiál, bioptická vzorka, punktát, dialyzát) je základným a najrýchlejším krokom pre rýchlu diagnostiku povrchových aj systémových mykóz. Odobratý 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), biochemická identifikácia (auxogram, zymogram). Plesňové formy je možné identifikovať mikroskopicky počas kultivácie v bločkoch ryžového agaru. Niektoré plesne je možné identifikovať na základe žltej fluorescence 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.

Povrchové mykózy	Kožené a podkožné mykózy	Endemické mykózy	Oportunistické mykózy
<b>Čierna piedra</b> <i>Piedraia hortae</i> <b>Tinea nigra</b> <i>Hortae werneckii</i> <b>Pityriasis versicolor</b> <i>Malassezia furfur</i> <b>Biela piedra</b> <i>Trichosporon</i> spp.	<b>Dermatofytózy</b> <i>Microsporum</i> spp. <i>Trichophyton</i> spp. <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Tinea unguium</i> <i>Trichophyton</i> spp. <i>E. floccosum</i> <b>Onychomykózy</b> <i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>Geotrichum</i> spp. <b>Keratinózy</b> <i>Fusarium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp. <b>Chromoblastomykózy</b> <i>Fonsecaea</i> spp. <i>Phialophora</i> spp.	<b>Blastomykóza</b> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <b>Histoplazmóza</b> <i>Histoplasma capsulatum</i> <b>Coccidioidomykóza</b> <i>Coccidioides immitis/posadasii</i> <b>Paracoccidioidomykóza</b> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	<b>Aspergilóza</b> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. terreus</i> <b>Kandidóza</b> <i>Candida albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. tropicalis</i> Cryptococcosis <i>Cryptococcus neoformans</i> <b>Trichosporonóza</b> <i>Trichosporon</i> spp. <b>Mucormykóza</b> <i>Rhizopus</i> spp. <i>Mucor</i> spp. <b>Pneumocystóza</b> <i>Pneumocystis jirovecii</i>

**Tab. 2. Rozdelenie mykóz.**

**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 bioptické vzorky, má veľmi vysokú prediktívnu hodnotu. Pozitívne nálezy kvasiniek alebo vláknitých húb z primárne nesterilných miest (bronchoalveolárna laváž, spútum, 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 špecifitou.
- **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<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> 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 trichomonádam.
- 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.

**Alyamíny** - lipofilné a keratinofilné 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, narušajú integritu bunkovej membrány blokovaním 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.

- amorolfín – dermatofyty, kvasinky, lokálne

**Benzylamíny**

- butenafín - derivát benzylamínu, mechanizmus účinku podobný ako pri alylamínoch, v SR nie je registrovaný

**Tiokarbamáty** – mechanizmus účinku ako pri alylamínoch Topické deriváty

- tolnaftát a tolciatlát – lokálne, dermatofyty, niektoré kvasinky a vláknité huby

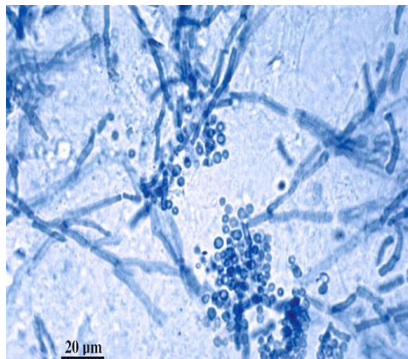
### 3.3 Povrchové mykózy

Medzi povrchové 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. 182. *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. 183. Pityriasis versicolor.**

## *Hortaea (Exophiala) werneckii*

### Charakteristika

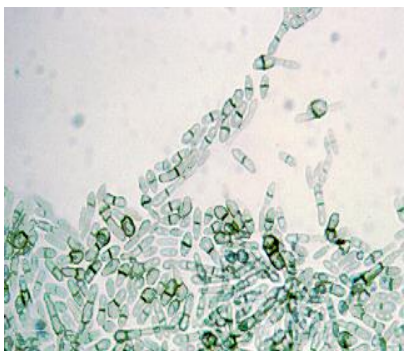
V mikroskopických preparátoch sú viditeľné vetvené, septované hýfy, artrokonídiá a predĺžené pučiace bunky.

### Ochorenia, diagnostika a liečba

**Piedra** je infekcia vlasového stvolu, superficiálne noduly sú tvorené „scementovanými“ hubovými elementami. Biela piedra – biele uzlíky na vlasoch, ochlpení. **Tinea nigra** je infekcia vrchných vrstiev stratum corneum, ložiská sú oválne, hnedočierne, ploché, ostro ohraničené makuly, často bez zápalu, hlavne na dlaniach, ploskách, zriedka inde. Vyšetrenie uzlíkov a nález vetvených pigmentovaných hýf pevne držiacych spolu



potvrdí diagnózu, v liečbe sa osvedčilo odstrániť postihnuté vlasy (oholiť). Pri tinea nigra sa používajú azolové preparáty a terbinafin.



Obr. 183. *Hortaea (Exophiala) werneckii*.

### 3.4 Kožné mykózy

#### Charakteristika

Dermatomykózy sú infekcie rohovej vrstvy kože a kožných adnex, ktorých pôvodcami sú dermatofyty, kvasinky a iné vláknité huby. Dermatomykózy 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).

#### Ochorenia, diagnostika a liečba

Dermatomykózy 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*. 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.



Obr. 184. Dermatomykóza.

<http://www.thebesttreatmentfor.com/ringworm/>

### 3.5 Podkožné mykózy

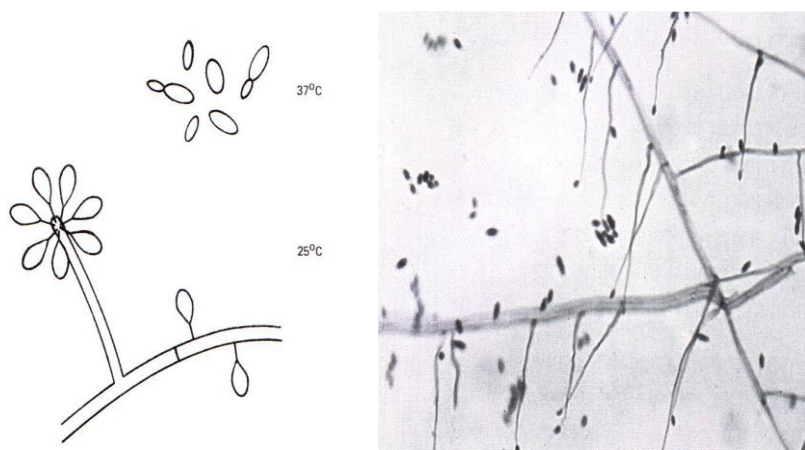
Podkožné mykózy postihujú hlbšie vrstvy kože, svaly, spojivé tkanivo. Najčastejšie vznikajú po traumatickej inokulácii, zostávajú lokalizované a vyvolávajú tvorbu abscesov, nehojácich sa vredov a drénujúcich sínusov. Častými pôvodcami sú rody *Exophiala* a *Cladosporium*. Najčastejšie sa tieto ochorenia 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).

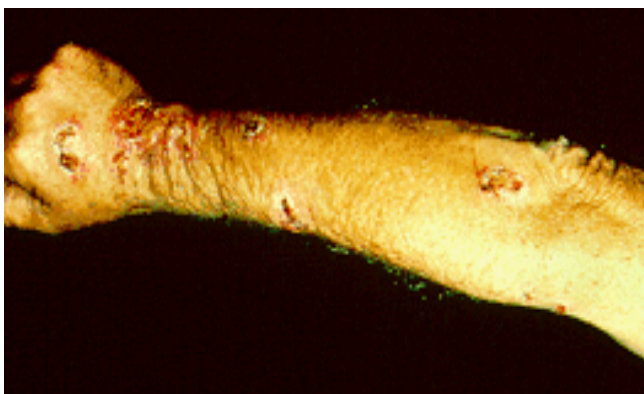


**Obr. 185. *Sporothrix schenckii*.**

<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. 186. Lymfokutánná sporotichóza.**

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/Mycoses/Subcutaneous/Sporotrichosis/>

## Chromoblastomykóza

*Exophiala*

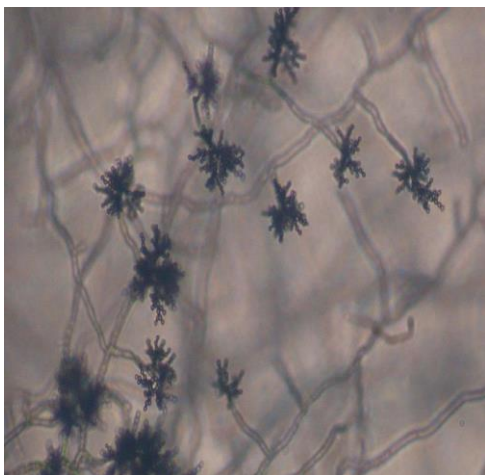
*Cladosporium*

*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. 187. Cladosporidium.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3f/Cladosporium\\_sp\\_conidia.jpg](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. 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, najúčinnějšími liekmi sú itraconazol a terbinafin.



**Obr. 188. Chromoblastomykóza.**

<http://medicine.academic.ru/16595/chromoblastomycosis>

## Eumykotický mycetóm

*Fusarium*

*Madurella*

*Exophiala*

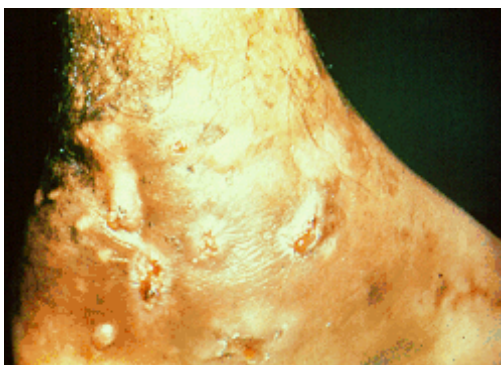
*Pyrenochaeta*

### 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).

### 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.



**Obr. 189. Eumykotický mycetóm.**

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/Mycoses/Subcutaneous/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. 190. Subkutánná faeohyfomykóza.**

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/Mycoses/Opportunistic/Phaeohyphomycosis/>

### **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.

## **3.6 Systémové mykózy**

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. 191. *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



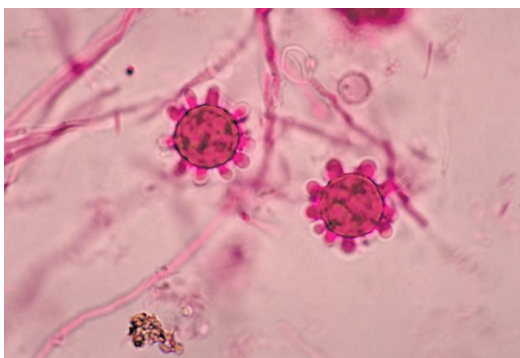
pučiacich kvasiniek potvrdí diagnózu. Liečba je založená na podávaní amfotericínu B a azolových preparátov.

## 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. 192. *Histoplasma capsulatum*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3f/Tuberculate\\_macroconidia\\_of\\_the\\_Jamaican\\_isolate\\_of\\_Histoplasma\\_capsulatum\\_PHIL\\_4023\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3f/Tuberculate_macroconidia_of_the_Jamaican_isolate_of_Histoplasma_capsulatum_PHIL_4023_lores.jpg)

#### 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.

## 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 sferuly naplnené endospórmi. Tieto patogény sa endemicky vyskytujú v Severnej Amerike, v Mexiku a na juhu Afriky.





**Obr. 193. *Coccidioides immitis*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c5/Arthroconidia\\_of\\_Coccidioides\\_immitis\\_39G0040\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c5/Arthroconidia_of_Coccidioides_immitis_39G0040_lores.jpg)

### **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%. 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. 194. Erythema multiforme.**

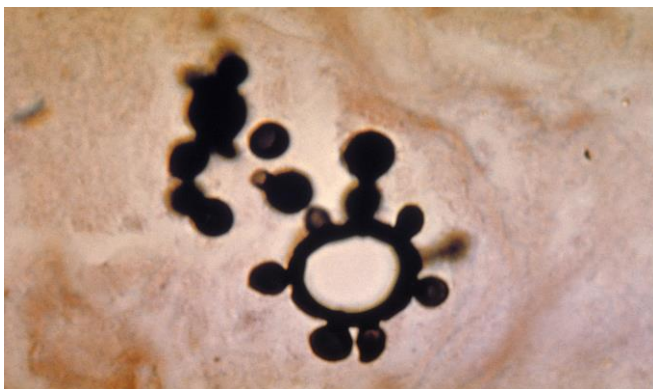
[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/35/Erythema\\_Multiforme\\_EM\\_01.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/35/Erythema_Multiforme_EM_01.jpg)

### **Paracoccidioidomykóza**

#### ***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. 195. *Paracoccidioides brasiliensis* („lodné kormidlo“).**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/49/Paracoccidioides\\_brasiliensis\\_01.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/49/Paracoccidioides_brasiliensis_01.jpg)

### **Ochorenia, diagnostika a liečba**

**Paracoccidioidomykóza** 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.

## **3.7 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 spp.*

### **Charakteristika**

Príslušníci rodu *Candida* kolonizujú ľudské telo. 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“).

### 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.

### *Aspergillus*

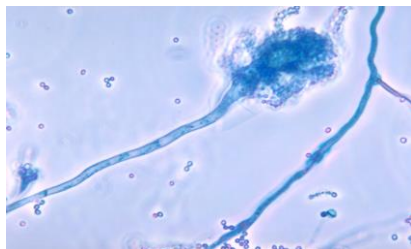
#### Charakteristika

Kolónie aspergilov (plesňová forma) sú rôznych farieb (čierne, hnedé, zelené, žlté, biele). 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.



**Obr. 196. Kolónie *Aspergillus* a *Penicilium*.**

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e7/Ascomycetes.jpg>

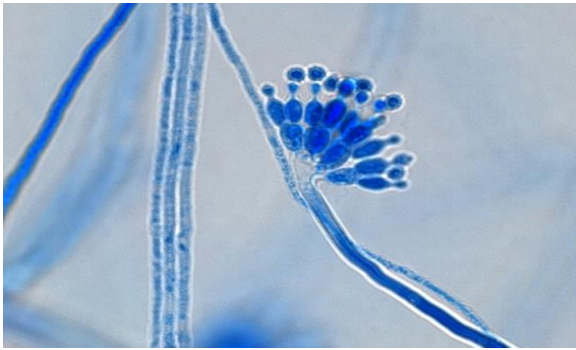


**Obr. 197. *Aspergillus fumigatus* – konídiofóry.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2f/Aspergillus\\_fumigatus\\_01.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2f/Aspergillus_fumigatus_01.jpg)

### 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. Diagnostika je založená na mikroskopickom náleze septovaných, dichotomicky rozvetvených hýf v histologických preparátoch a na charakteristickej morfológii (konídiofóry, 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.



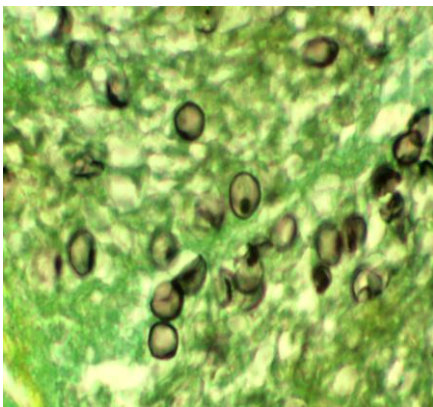
**Obr. 198. *Aspergillus calidoustus* – metuly a phialidy.**

<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.sk/2012/10/p.html>

### *Pneumocystis jirovecii* (predtým *P.carinii*)

#### **Charakteristika**

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. 199. *Pneumocystis jirovecii* – cysty v tkanive.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/87/Pneumocystis\\_carinii\\_01.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/87/Pneumocystis_carinii_01.jpg)

#### **Ochorenia, diagnostika a liečba**

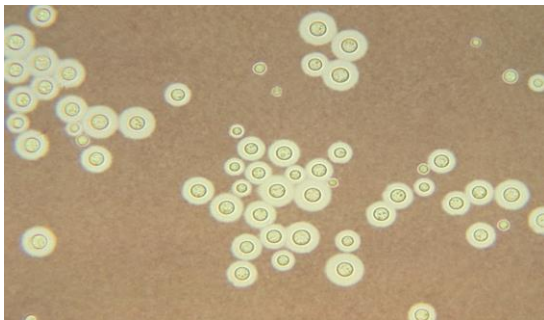
Infekcia postihuje takmer výlučne pacientov s poruchami imunity. Vstupnou bránou pre infekciu je respiračný trakt, vyvíja sa intersticiálna pneumónia. Extrapulmonálna manifestácia je typická u pacientov s AIDS, ochorenie postihuje lymfatické uzliny, slezinu, pečeň, kostnú dreň a štítnu žľazu. Diagnóza sa robí pomocou mikroskopického vyšetrenia klinických materiálov vrátane bronchoalveolárnej laváže, spúta a biopsických vzoriek. Ochorenie sa lieči trimetoprim-sulfametoxazolom, u pacientov s AIDS sa používa aj pentamidín, trimetoprim-dapson a clindamycín-primaquin.

### *Cryptococcus neoformans*

#### **Charakteristika**

Je to monomorfná huba, vyskytuje sa v kvasinkovej forme, je opuzdrený. Množí sa pučaním. V klinickom materiáli sa nenachádzajú germinálne tubuly, hýfy ani pseudohýfy. O ľudského tela sa dostáva inhalačnou cestou.





**Obr. 200. *Cryptococcus neoformans*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6f/Cryptococcus\\_neoformans\\_using\\_a\\_light\\_India\\_ink\\_staining\\_preparation\\_P\\_HIL\\_3771\\_lores.jpg](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 však spôsobuje oportúnnu infekciu – **kryptokokózu** u imunokompromitovaných pacientov. Po vdýchnutí dochádza k diseminácii kvasinkových foriem z pľúc do centrálného nervového systému. *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. 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 oportúnnu infekcia vyvolaná hubami z rádu Mucorales (rody *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor* a iné).

### **Charakteristika**

Makroskopicky tieto huby produkujú šedé až hnedé kolónie vlneného vzhľadu. Mikroskopicky sú to plesne so širokými, riedko septovanými alebo énocytickými 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. 201. *Mucor spp.***

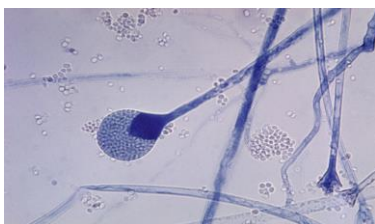
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/61/Mucor.mucedo.-.lindsey.jpg>

Typ a miesto infekcie	Ochorenie	Mikroorganizmy
<b>Povrchové</b> Limitované na vonkajšie vrstvy kože a vlasov	Pityriasis versicolor Tinea nigra čierna/biela piedra	<i>Malassezia</i> <i>Exophiala</i> <i>Trichosporum</i>
<b>Kožné</b> Postihuje epidermis a sa nazývajú keratinizované oblasti (koža, vlasy, nechty)	Ochorenie kože (tinea), ochorenie vlasov a nechtov (dermatomykóza)	<i>Trichophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Epidermophyton</i>
<b>Podkožné</b> Postihuje dermis, podkožné tkanivá a svaly	Lymfokutánná sporotrichóza Chromoblastomykóza Eumykotický mycetom	<i>Sporothrix schenckii</i>  <i>Madurella grisea</i>
<b>Systémové</b> Pôvod majú obvykle v pľúcach, fagocytované makrofágmi, šíria sa do mnohých orgánov. Mnohé primárne infekcie sú inaparentné, symptómy môžu progredovať pri pulmonárnych alebo ulceratívnych léziách. Imunitná odpoveď vedie k tvorbe syncýcií, fibróz, granulómov a kalcifikovaných lézií. Vyvolávateľia sú dimorfné huby okrem <i>Cryptococcus sp</i>	Histoplazmóza Blastomykóza Parakokcidioidomykóza  Kokcidioidomykóza Kryptokokóza - meningitída obvykle endemické	<i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> (tvorí púzdro)
<b>Oportúnne</b> Obvykle vyvolávajú ochorenia u imunokompromitovaných, môžu spôsobiť postihnutie rôznych tkanív	Kandidóza Aspergilóza Zygomykóza	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i>

**Tab. 2. Ochorenia vyvolané hubami – prehľad.**

### Ochorenia, diagnostika a liečba

**Rinocerebrálna mukormykóza** je invazívne ochorenie postihujúce nosovú dutinu, paranasálne 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.



**Obr. 202. *Mucor spp.* – dozreté sporangium.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c5/Mature\\_sporangium\\_of\\_a\\_Mucor\\_sp.\\_fungus.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c5/Mature_sporangium_of_a_Mucor_sp._fungus.jpg)



## Úlohy na praktické cvičenia

### A. Odber materiálu na mykologické vyšetrenie

#### Pokyny k odberu – dermatofyty

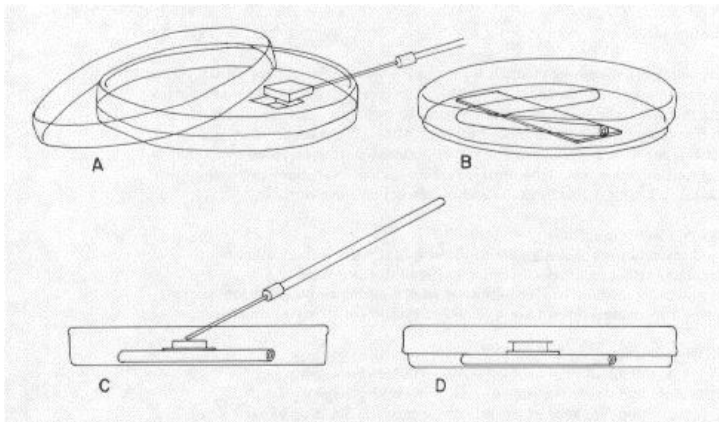
Materiál odoberáme tak, aby zostal v suchom stave. Takto odobratý materiál je použiteľný na spracovanie aj po viacerých dňoch. Ak je materiál vlhký, môže byť rýchlo znehodnotený kontamináciou rýchlo rastúcich saprofytov a baktérií. Materiál v tomto prípade treba doručiť na spracovanie do laboratória 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 nechtovej platničky. Na vyšetrenie sú najlepšie častice podnechtových hyperkeratóz. Odber z povrchu nechtu 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 keratínovú hmotu z dostupnej vnútornej časti nechtovej platničky na rozhraní chorej a zdravej časti nechta. Pokiaľ boli prejavy dermatomykóz ošetrené 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 záchytnosti. **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 nádoby 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

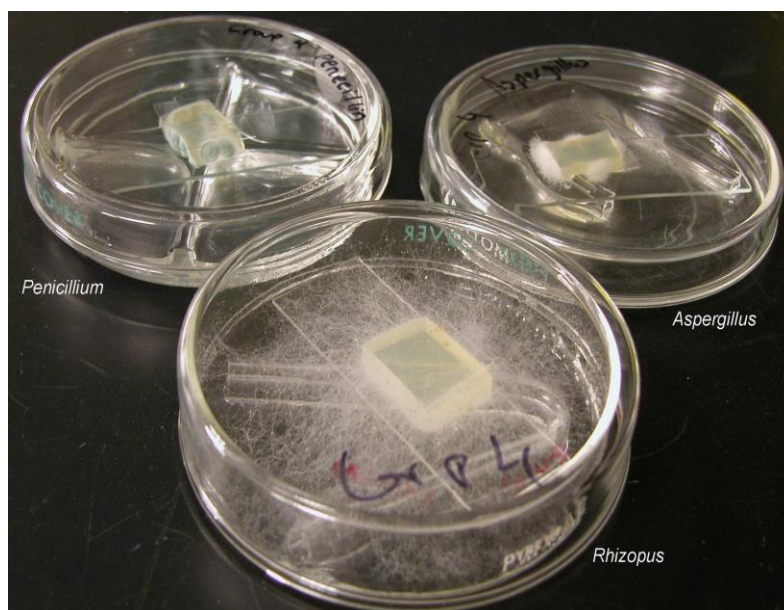


**Obr. 203. Bločky ryžového agaru naočkované vpichom (*Candida albicans*).**

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. 204. Kultivácia plesní na bločkoch ryžového agaru.**

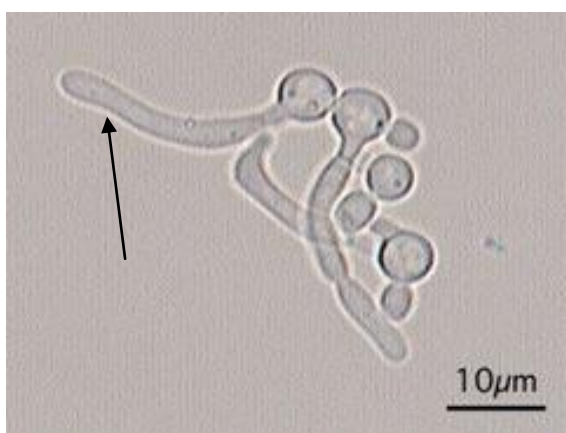
<http://www.studyblue.com/notes/note/n/lab-practical-ii/deck/4465548>

### 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.

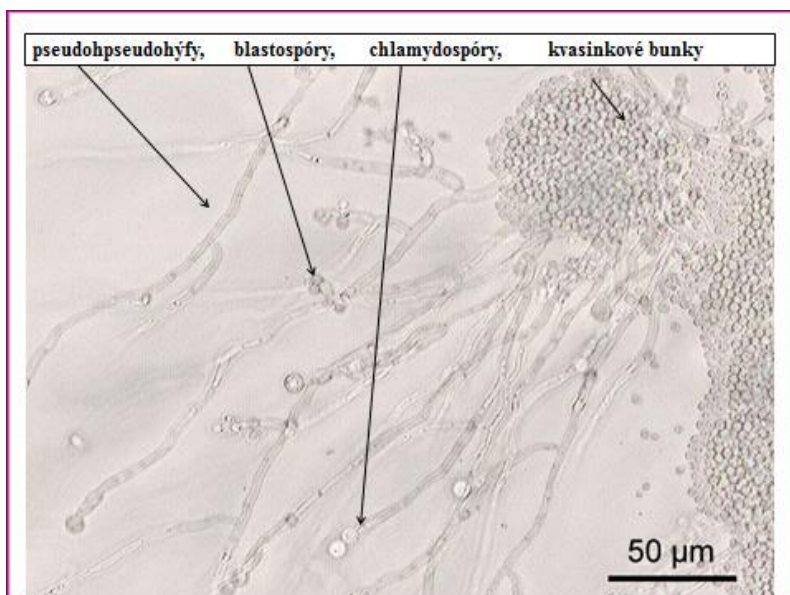
### D. GT test (angl. germ tubes test)

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. 205. GT útvary.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/12/C\\_albicans\\_germ\\_tubes.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/12/C_albicans_germ_tubes.jpg)



**Obr. 206. *C. albicans* – štruktúry viditeľné v mikroskope (kultivácia na bločkoch ryžového agaru).**

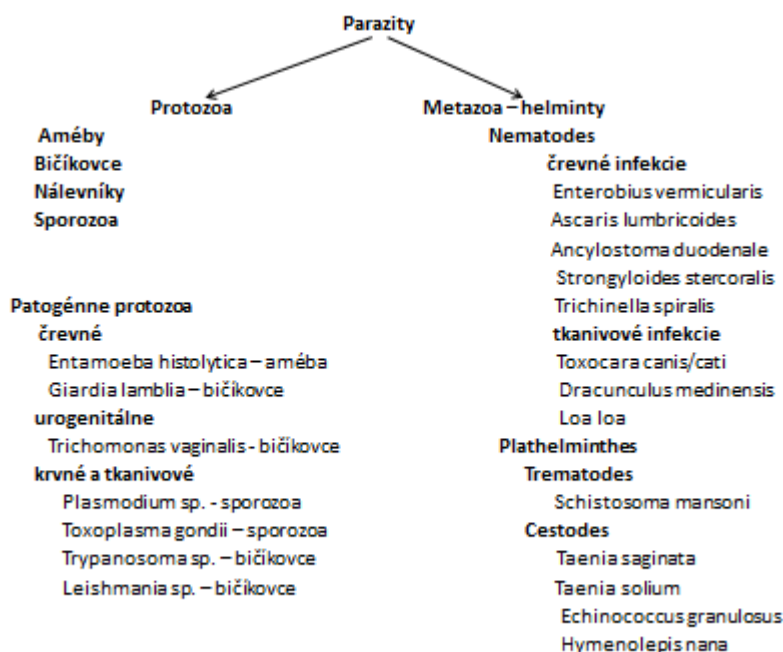
<http://www.studyblue.com/notes/note/n/lab-practical-ii/deck/4465548>

## 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

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. 207. Rozdelenie medicínsky najvýznamnejších 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, bičikovce, 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*.

#### Bičikovce (flagellata)

Od améb sa bičikovce 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 (cílií), 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).

## **ČERVY (HELMINTHES)**

Parazitické červy sú viacbunkové organizmy s vyvinutou tráviacou, nervovou, exkretorickou a reprodukčnou sústavou. Lekársky významné sú podkmene a triedy:

### **Ploché červy (PLATHELMINTHES)**

#### **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. Dýchajú celým povrchom tela, mnohé dýchajú anaeróbne (kyslík získavajú rozkladom sacharidom z potravy – endoparazity). Nemajú cievnú 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 diagnostika parazitóz

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, punktáty 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 prvky, 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 tekutiny, sklovce 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 najučinnejších 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 prvky 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).

## 2. pri helmintózach

mebendazol

albendazol

Pri oboch uvedených antiparazitikách, ako aj pri dlhodobejšej liečbe protozoóz je potrebné kontrolovať pečeňové enzýmy a krvný obraz.

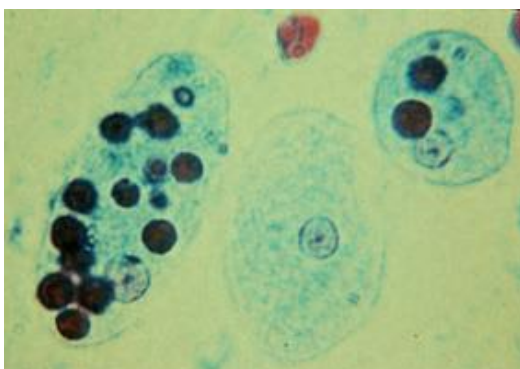
## 4.3 Medicínsky významné protozoa

### 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. 208. *Entamoeba histolytica* – trofozoity s erytrocytmi.**

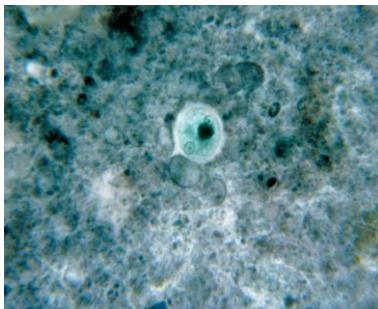
[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cf/Trophozoites\\_of\\_Entamoeba\\_histolytica\\_with\\_ingested\\_erythrocytes.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cf/Trophozoites_of_Entamoeba_histolytica_with_ingested_erythrocytes.JPG)

#### 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 vrede, 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 vrede. Niekedy dôjde až k perforácii čreva a peritonitíde s následnou smrťou.



**Obr. 209. *Entamoeba histolytica* – cysta.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cb/Entamoeba\\_histolytica\\_01.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cb/Entamoeba_histolytica_01.jpg)

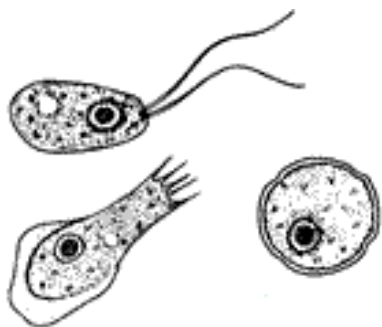
### **Laboratórna diagnostika a liečba**

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.

### ***Naegleria fowleri* (ameba)**

#### **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).



**Obr. 210. *Naegleria fowleri*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Naegleria\\_%28formes%29.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Naegleria_%28formes%29.png)

### **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.

### **Ochorenia**

Primárna amébová meningoencefalitída je náhle, prudké a ťažko diagnostikovateľné ochorenie centrálneho 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.

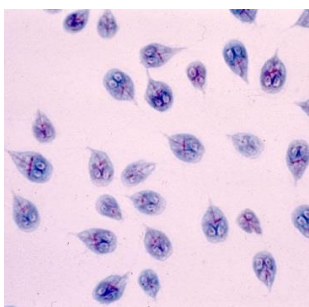
## Laboratórna diagnostika a liečba

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 doxycyklínom.

### *Giardia lamblia* (flagellata)

#### Charakteristika

*Giardia* je črevný patogén. Má dve štádiá, trofozoit a cystu. Trofozoit má hruškovité telo, prísavku, všetky organely zdvojené a 8 bičíkov. Tvorí cysty, ktoré sú oválne a vychádzajú stolicou von z tela.



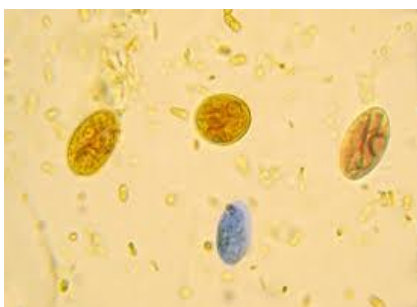
Obr. 211. *Giardia lamblia* – trofozoity.

#### Patogénny potenciál

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 nákeze 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 malabsorbnému syndrómu, nedostatku vitamínov, váhovej strate a mentálnej retardácii.



Obr. 212. *Giardia lamblia* – cysty.

## 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 stoliaciach nachádzame obvyčajne len oválne cysty. Na dôkaz cyst 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, imunofluorescenčné 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.

##### Patogénny potenciál

Trichomonády mechanicky poškadzujú 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. 213. *Trichomonas vaginalis*.

### 4.3.3 Krvné a tkanivé protozoa

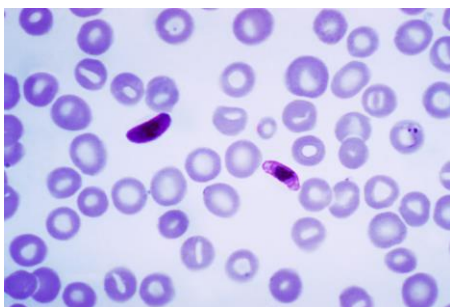
#### *Plasmodium* (sporozoa)

*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. 214. *Plasmodium falciparum* – gametocyty, krvný náter.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fc/Plasmodium\\_falciparum\\_01.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fc/Plasmodium_falciparum_01.png)

#### Charakteristika

Definitívnym hostiteľom plazmódií sú samičky komárov (*Anopheles*). V nich prebieha pohlavné rozmnožovanie plazmódií, tzv. **sporogónia**. Samička sa infikuje pri cicaní samčiami a samičími 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

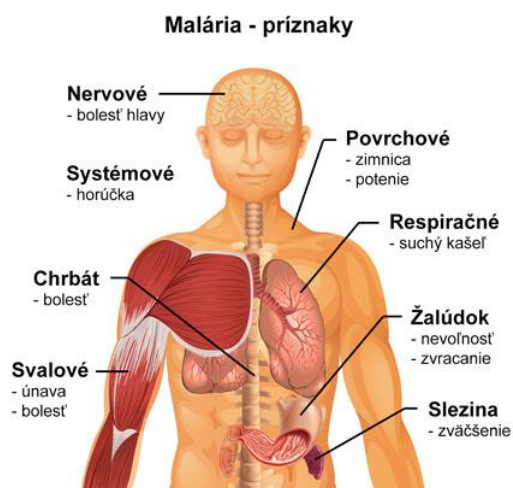
Patologické zmeny v parenchýmových bunkách pečene po invázii exoerytrocytárných plazmódií sú minimálne. Pri biopsii pečene vidíme menšie bunky obsahujúce merozoity. Rezervoárom parazitov sa stáva pečeň a plazmódiá môžu napadnúť erytrocyty neskôr. Preto, aj keď sa liečením zničia parazity v erytrocytoch, 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. 215. 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.

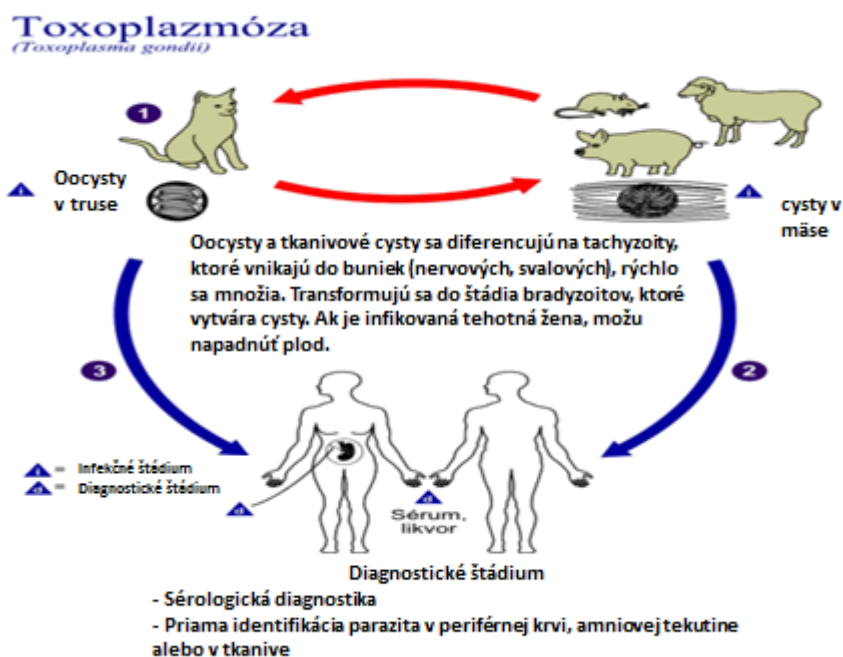
### *Toxoplasma gondii* (sporozoa)

#### 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.

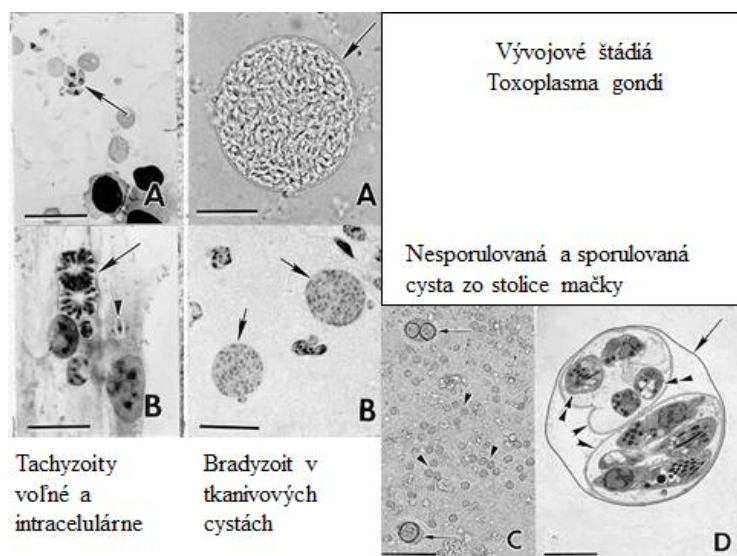


Obr. 216. *T. gondii* – životný cyklus.

<http://www.genetika-biologie.cz/teratogeny>

## Ochorenia

Rozoznávame toxoplazmózu vrodenu (kongenitálnu) a získanu (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 (vzácnu), 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. 217. 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 dopĺňujúcich (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 (rodézská) 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. 218. *Trypanosoma cruzi*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Trypanosoma\\_cruzi\\_crithidia.jpeg](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 deštrujú 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. Deštrujú aj hladké svaly vnútorných orgánov. V mozgu vznikajú nodulárne ložiská, ktoré zapríčiňujú meningoencefalitídu. 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. **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.

### *Leishmania (flagellata)*

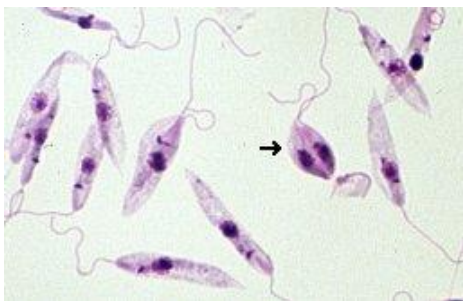
Z rodu *Leishmania* sú pre človeka patogénne:

***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. 219. *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 hojitelný vred (*L. tropica*), alebo sa šíri do buniek nazofaryngeálnych slizníc (*L. braziliensis* a *L. mexicana*). Pri kožných formách rozoznávame tri typy lézií – ulceróznú, verukóznú 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 exitus.

### **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 i.v. injekcia 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 zvíreným 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. 220. Vajíčka *Enterobius vermicularis*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/Eggs\\_of\\_Enterobius\\_vermicularis\\_5229\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/Eggs_of_Enterobius_vermicularis_5229_lores.jpg)

### 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 vylučovaniu vajíčok samičkami, je na vyšetrenie potrebné odobrať minimálne 3 vzorky s odstupom aspoň jedného dňa. Mikroskopicky je možné identifikovať charakteristické vajíčka. 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 vyliahne larva, prenikne cez črevnú stenu a migruje krvným obehom do pľúc, postupuje do priedušnice, kde je vykašlaná a opäť prehĺtnutá. 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).

## 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).

## Laboratórna diagnostika a liečba

Najjednoduchšou a tiež najspoľahlivejšou diagnostikou ochorenia je makroskopická identifikácia dospelého červa alebo dôkaz vajícok 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 trópoch a v subtrópoch.

### Patogénny potenciál

*Ancylostoma* je zavŕtaná do steny čreva, samička produkuje vajíčka, ktoré sa stolicou dostávajú do pôdy. Z nich sa vyľiahnu rabditiformné 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

Prenikanie lariev do kože vyvoláva svrbiacu 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.

## Laboratórna diagnostika a liečba

Diagnostika je založená na náleze vajícok v stolici. V terapii sa osvedčili benzimidazolové preparáty.



**Obr. 221. *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 opudzrenej larvy sa vyvíja zápalová reakcia

### **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. 222. *Trichinella spiralis*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ed/Trichinella\\_larvaeG.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ed/Trichinella_larvaeG.JPG)

### **Laboratórna diagnostika a liečba**

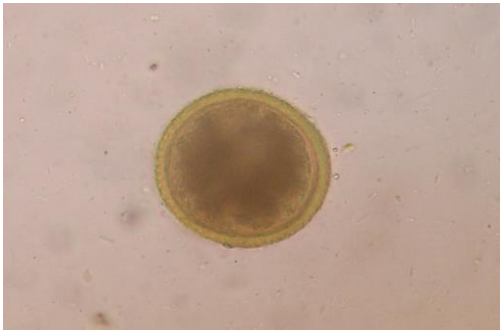
Trichinely je možné dokázať v excidovaných vzorkách z tkanív, v mikroskope sú viditeľné opudzrené larvy. V nepriamej diagnostike sa dokazujú protilátky pomocou testu ELISA. Na liečbu sa používajú deriváty benzimidazolu vo vysokých dávkach spolu s kortikosteroidmi.

### **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. 223. Vajíčko *Toxocara canis*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e0/Toxocara\\_canis.JPG](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. Najzávažnejším je postihnutie oka.

### **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. 224. Odstraňovanie *Dracunculus medinensis*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/59/Dracunculus\\_medinensis.jpg](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.

*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.

#### 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. 225. Vajíčko *Schistosoma mansoni*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9a/Schistosoma\\_mansoni\\_egg\\_4841\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9a/Schistosoma_mansoni_egg_4841_lores.jpg)

## Ochorenia

Klinické prejavy závisia od lokalizácie parazitov. Vyvolávajú urogenitálnu schistomózu, ktorá má vysokú morbiditu a mortalitu.

## Liečba

Najúčinnejší je prazikvantel.



## Cestodes

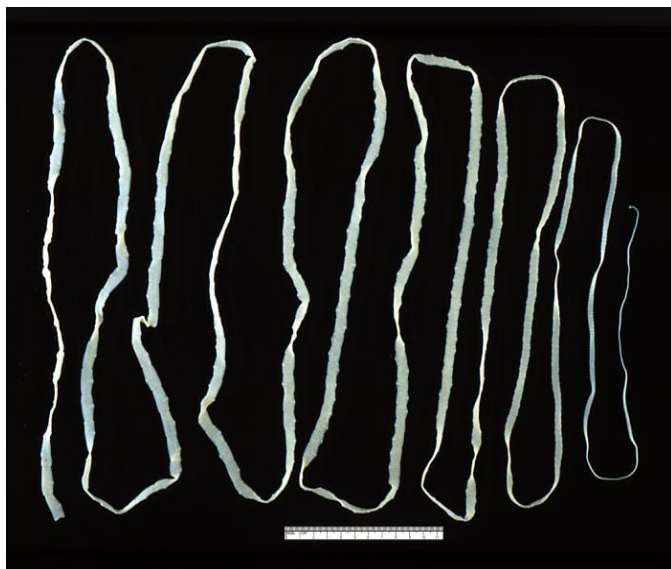
### *Taenia saginata*

#### 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, kde sa pasie dobytok, ľudskými fekáliami.

#### 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. 226. *Taenia saginata*.

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e2/Taenia\\_saginata\\_adult\\_5260\\_lores.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e2/Taenia_saginata_adult_5260_lores.jpg)

#### Ochorenia

Ak človek konzumuje nakazené mäso, surové alebo polosurové, scolex sa uvoľní z cysticerky 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 kŕčové stavy a tráviace ťažkosti.

#### Laboratórna diagnostika a liečba

Dôkaz proglotidov, prípadne uvoľnených vajíčok v stolici. Proglotidy nezriedka vychádzajú z análneho otvoru samovoľne, bez defekácie. V liečbe sa používajú niklozamid, prazikvantel.

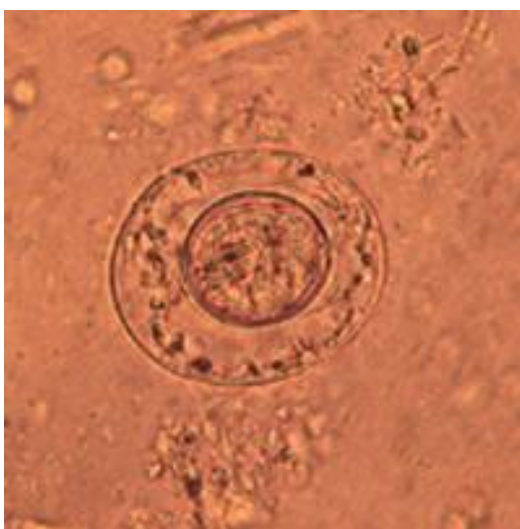


### ***Taenia solium***

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 vajíčok 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 vajíčok v stolici. V liečbe sa používa niklosamid v jednorázovej dávke, ktorú je potrebné opakovať po 4 -7 dňoch.



**Obr. 227. Vajíčko *Hymenolepis nana*.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/93/H\\_nana\\_eggB.JPG](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. 228. Larvy echinokoka.**

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/88/Hydatid\\_sand\\_DPDx.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/88/Hydatid_sand_DPDx.JPG)

### **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 žlčovodov a krvných ciev, môže dôjsť až k ruptúre žlčovodov, 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.

### **Úlohy na praktické cvičenia**

#### **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 zmraziť) 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 trópoch a subtropoch 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 vyplavujú 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 techník, 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 rozdeľujú 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?

## ZDROJE

- 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
- 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, Příloha 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 Ľ., 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 vyšetřovanie QuantiFERON® TB Goldtest u pacientov liečených biologickou liečbou.
- Dostupné na: [www.zdravie.sk/files/spfs/odporucanie\\_quantiferon.doc](http://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., Pöczová 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](http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=415)

Szilágyiová M.: Parazitárne ochorenia – aktuálne púoznatky, Via pract., 2006, roč. 3 (11): 515–517. Dostupné na: [http://www.solen.sk/index.php?page=pdf\\_view&pdf\\_id=1001](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>

Vyšetrenie 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](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 vláknité huby. Dostupné na: <http://www.hpl.sk/odborna-zona/vysetrenia/mykologia/mikroskop>

Kmeň: Hlístovce (Nematoda). Dostupné na: <http://www.google.sk/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=6&ved=0CEoQFjAF&url=http%3A%2F%2Fwww.scspp.sk%2Fprofesori%2FHertelyova%2FHlistovce.doc&ei=7LTFUqDHHY0u7AbK84GwBw&usg=AFQjCNFoYUod89vKEkgP6lC7VdKjtINBCA&bvm=bv.58187178,d.ZGU&cad=rja>

<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://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.hpl.sk/ochoreli-ste/choroby/hepatitidaa>  
<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://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.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>  
*apbiologia.zaridi.to/wp.../1.cv-Fakultatívne-anaeróbne-G+-koky.doc*