

Lékařská mikrobiologie pro ZDRL

Týden 18:

Přehled anaerobů a mykobakterií

Ondřej Zahradníček 777 031 969

zahradnicek@fnusa.cz ICQ 242-234-100

Co nás dnes čeká

- Nesporulující anaerobní bakterie
- Klostridia (grampozitivní sporulující anaerobní tyčinky)
- Mykobakteria (původce tuberkulózy, původce lepry, atypická mykobakteria); zmínka o aktinomycetách a nokardiích

Ještě než začneme...

- ...měli bychom si cosi uvědomit. Doted' (minulé dvě přednášky) jsme si povídali většinou (až na výjimky, např. kapavku) o bakteriích, které se projeví při běžné diagnostice
- Doktor prostě pošle vzorek „na kultivaci“, a ono z něj „něco vyrostě“.
- S tím už je ale **KONEC!** Dál už nás čekají jen mikroby, pro které tohle neplatí.

Takže:

- Pokud chce klinik, aby byl jeho vzorek prověřen na přítomnost anaerobů, mykobakterií či aktinomycet, musí to uvést na průvodce. Musí se užít speciální postupy.
- U dalších původců (třeba spirochet či chlamydií) se navíc zpravidla odebírá sérum a provádí se nepřímý průkaz
- Laborant si toho musí být vědom a případně upozornit na vhodný způsob odběru či označení průvodky

1. Nesporelující anaeroby



Bacterioides ureolyticus

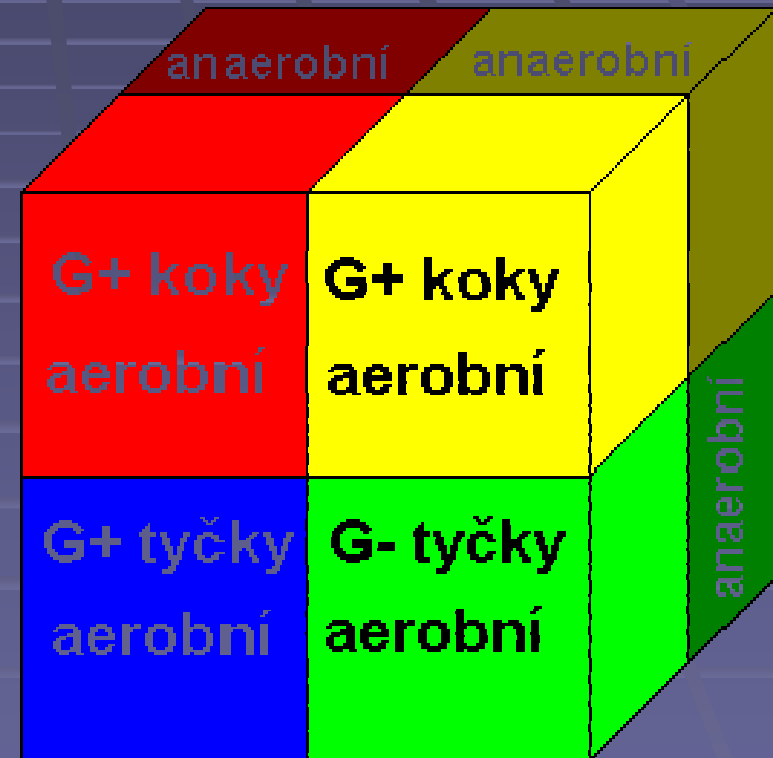
Co jsme znali doted'

- Zatím jsme se seznámili se čtyřmi skupinami mikrobů, které rostou za aerobních podmínek – ať už jsou striktně aerobní jako např. pseudomonády, nebo fakultativně anaerobní jako třeba *Escherichia coli*.

G+ koky	G- koky
G+ tyčky	G- tyčky

Nyní si přidáme další čtyři skupiny

- Každá z oněch čtyř skupin má totiž svoje anaerobní „bratříčky“. Jejich vlastnosti se výrazně liší od aerobních bakterií a naopak vykazují některé společné charakteristiky. Vymyká se jen rod *Clostridium*, protože umí tvořit spory



Klinická charakteristika

- Vyskytují se jako běžná flóra **ve střevě, v ústní dutině a většinou i v pochvě.**
- Patogenem se stanou, pokud se dostanou **mimo střevo**
- Typické jsou **smíšené infekce**, často při spolupůsobení jiných bakterií (např. záněty pobřišnice s účastí střevních enterobakterií)
- K těmto infekcím většinou dochází **v okolí míst, kde se anaeroby přirozeně vyskytují**

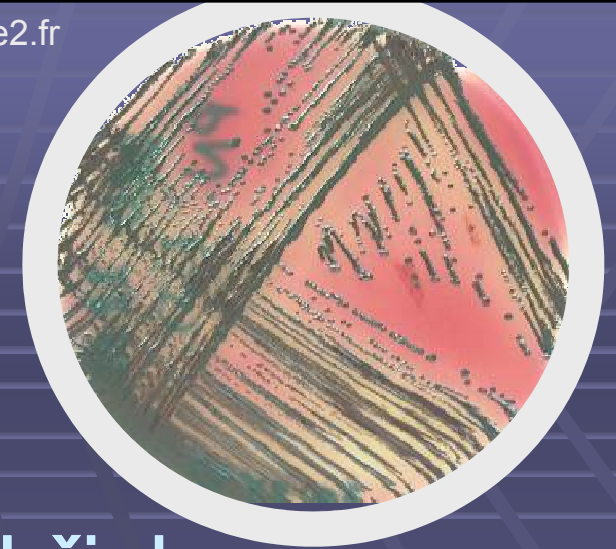
Přenos infekce

- Významný je **endogenní přenos** ze střeva do břišní dutiny, z dutiny ústní do měkkých tkání krku a tváře (ale také do plic, zvláště u tonoucích, opilců apod.) a z pochvy do oblasti tzv. malé pánve.
- Jiný než endogenní přenos je málo běžný; do rány se mohou anaeroby dostat při pokousání, do střeva snad s potravou

Léčba

- **Penicilin** je lékem volby anaerobních infekcí kromě infekcí způsobovaných rodem *Bacteroides*, který je primárně rezistentní. Využívají se i aminopeniciliny, případně i s inhibítorem betalaktamázy
- **Metronidazol** se používá např. u anaerobních poševních infekcí, jeho výhodou je zde současná účinnost na trichomonády
- Z **dalších antibiotik** se uplatňují například linkosamidy

Příběh

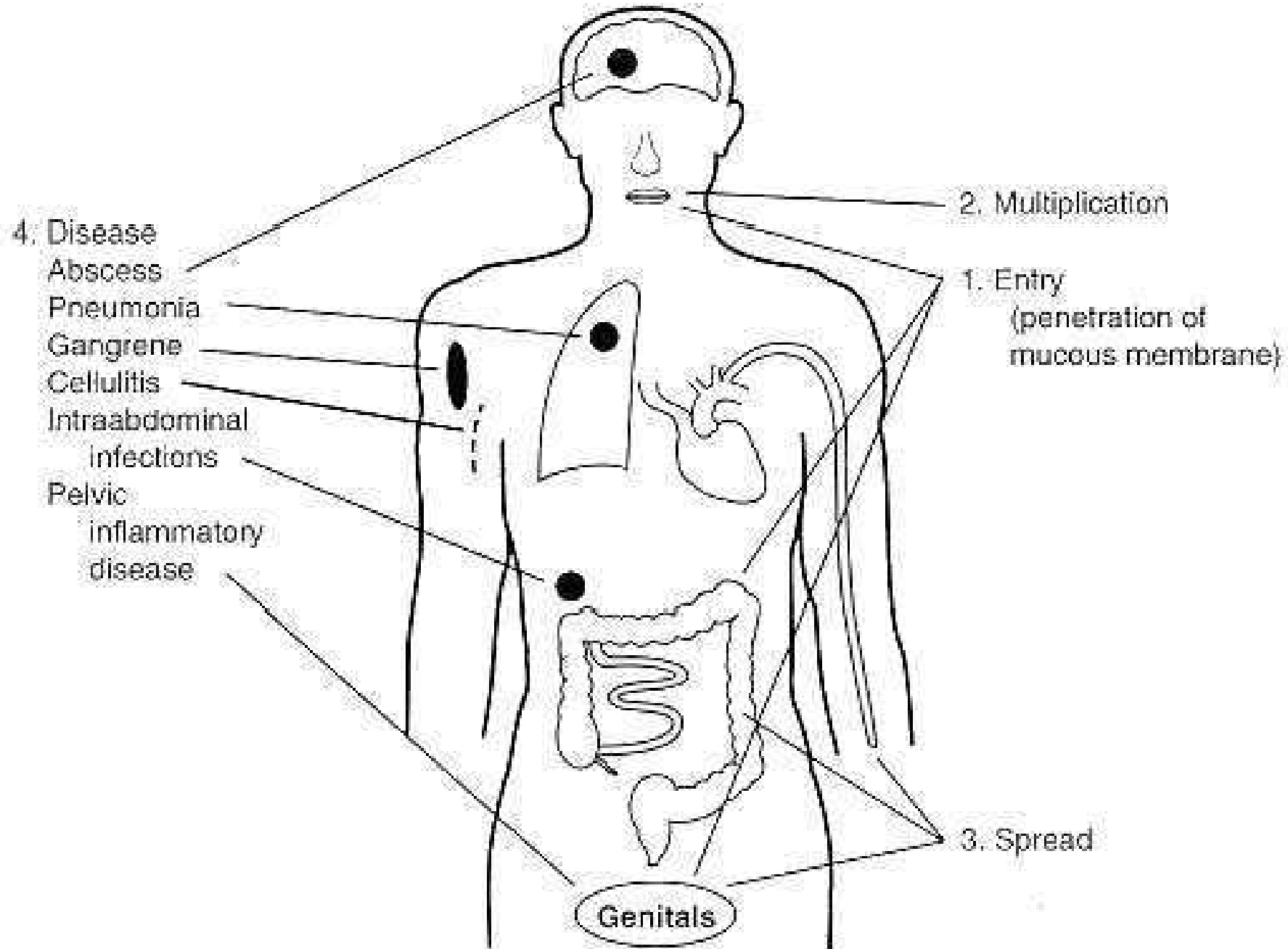


- Paní Raková byla přijata pro horečnatý stav a intenzivní bolesti břicha
- Zobrazovací metody ukázaly na absces malé pánve. Ukázaly však také nádor na děložním čípku – později se ukázalo že jde o karcinom
- U paní Rakové se naštěstí podařilo operačně vyřešit nejdříve absces a poté i nádor, byť za cenu provedení hysterektomie. Metastázy se naštěstí neobjevily.

Viníkem je

- Směs striktně anaerobních, ale i fakultativně anaerobních bakterií
- Tato směs se zřejmě vyskytovala v pochvě paní Rakové, aniž by jí činila sebemenší problémy
- Nádor však porušil anatomickou bariéru, a mikroby se dostaly do míst, kde způsobily absces.

Anaeroby v těle



Anaerobní infekce z ústní dutiny



Novorozenecká anaerobní pneumonie

aapredbook.aappublications.org

Bacteroides and *Prevotella* infections. *Bacteroides fragilis* pneumonia in newborn (*B. fragilis* isolated from the placenta and blood culture from the newborn). Anaerobic cultures were obtained because of a fecal odor in the amniotic fluid



Gingivostomatitis: *Prevotella gingivalis*

www.mamagums.com

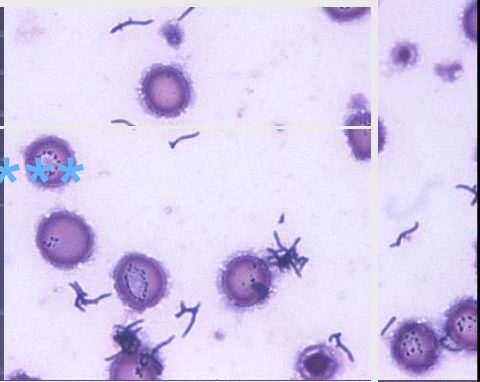


Společné charakteristiky nesporulujících anaerobů

- Vyskytují se jako běžná flóra:
 - v tlustém střevě tvoří 99,9 % celkového objemu mikrobů, je jich tam kolem jednoho kilogramu
 - v ústech mohou žít díky biofilmu – jsou do něj zavzaty tak, aby neměly přímý přístup ke vzduchu, které by je ohrožoval
 - v pochvě nejsou přítomny u všech žen, ale uvádí se, že asi 70 % žen nějaké anaeroby v pochvě má; pokud se zde ovšem přemnoží, jde o dysmikrobii, kterou je nutno léčit
- Při zánětu obvykle neexistuje jeden původce, ale uplatňuje se směs. Někdy se používá termín „Veillonova flóra“

Přehled nesporelujících anaerobů (u člověka nejběžnější druhy)

<http://www.geocities.com>

	Koky	Tyčinky	
G+	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Propionibacterium</i> *** <i>Eubacterium</i>	
G-	<i>Veillonella</i> http://www.geocities.com	<i>Fusobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i> * <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> **	

*se zašpičatělými konci

**s rovnými konci tyčinky

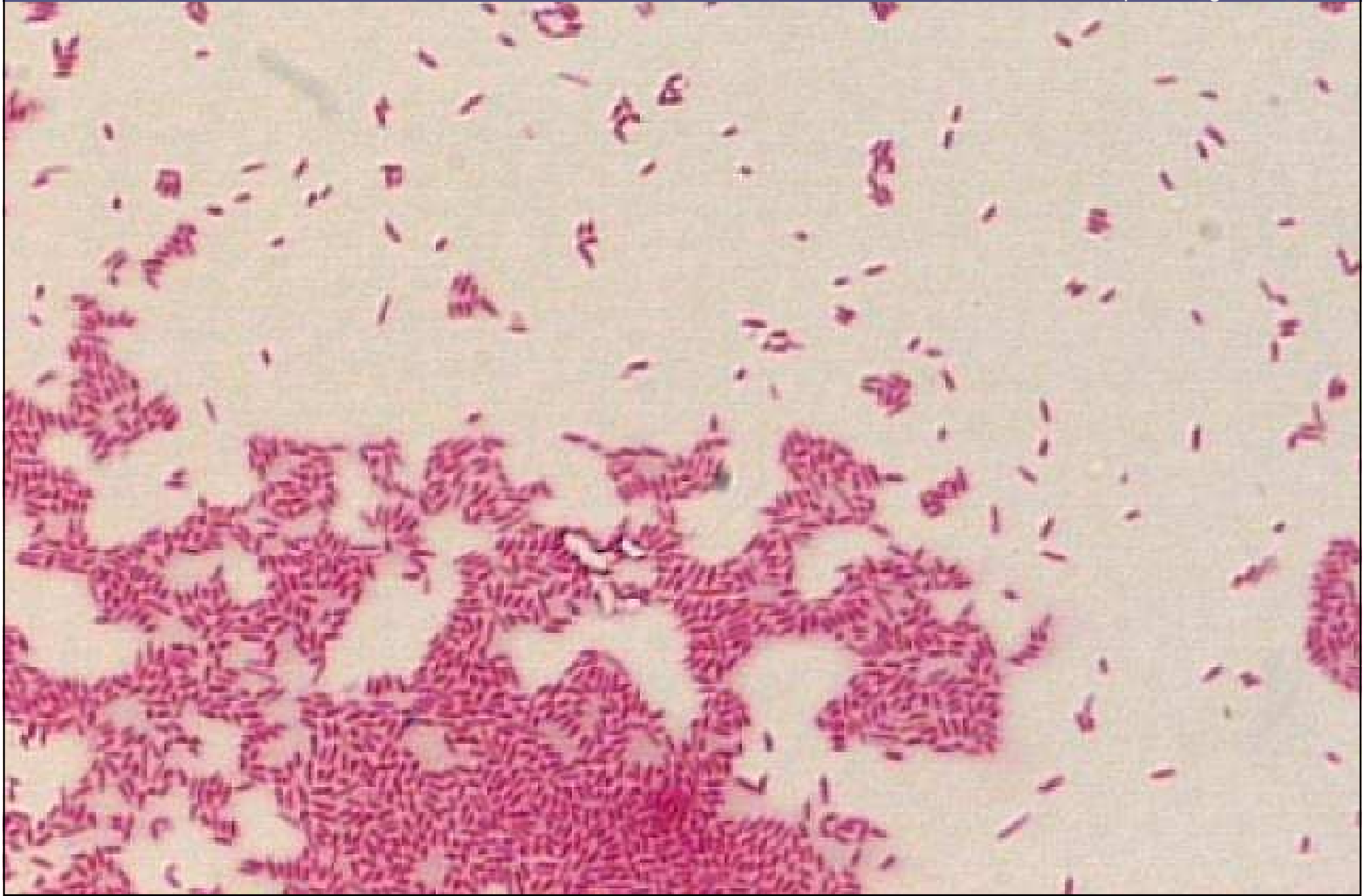
***není stoprocentní anaerob

Rozdíly mezi gramnegativními anaerobními tyčinkami

Rod <i>Bacteroides</i>	<i>Prevotella</i> a <i>Porphyromonas</i>
Převážně ve střevě	Převážně v ústní dutině
Rezistentní na penicilin	Bývají citlivé na penicilin
Biochemicky aktivnější	Biochemicky méně aktivní
Netvoří pigment	Často tvoří pigment
Původně všechny patřily do rodu <i>Bacteroides</i>	

Bacteroides fragilis

<http://www.geocities.com>



Bacteroides sp.

www.medmicro.info, foto O. Z.

Dříve se používal pro tyto útvary název
„*Sphaerophorus necrophorus*“, tedy
„Kulonoš smrtonosný“



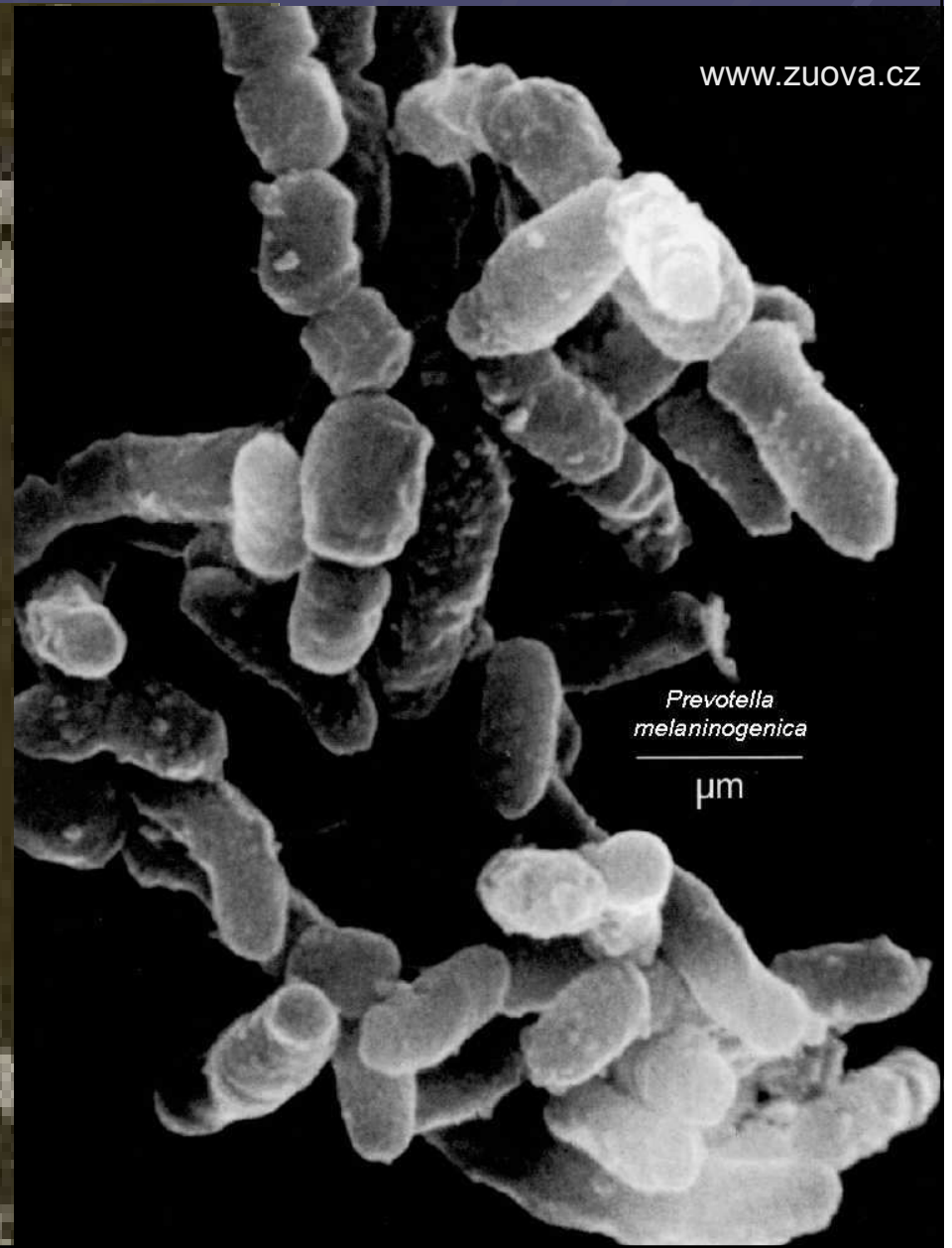
Porphyromonas gingivalis

Prevotella melaninogenica

www.h2.dion.ne.jp



www.zuova.cz



*Prevotella
melaninogenica*

μm

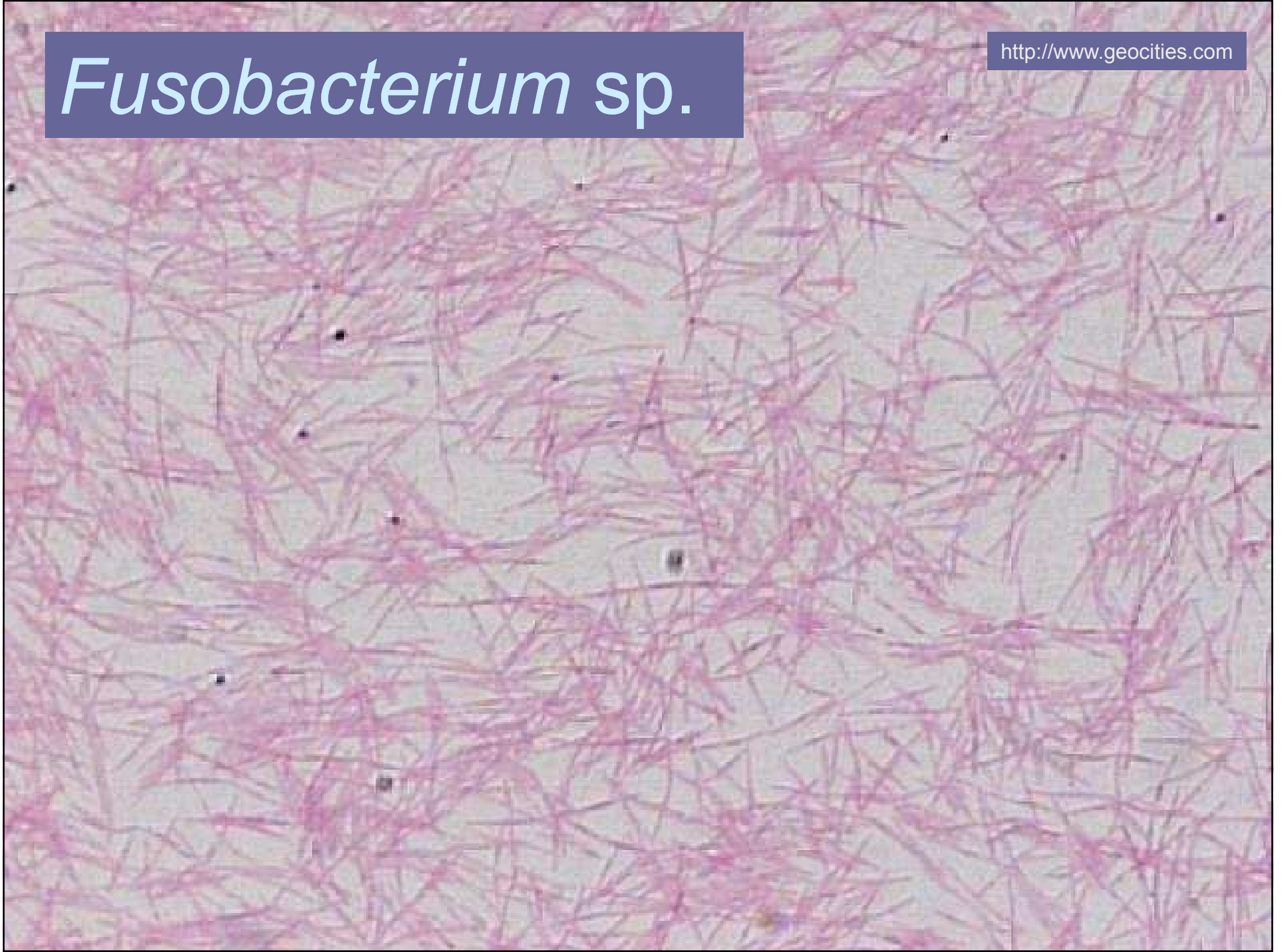
Prevotella melaninogenica (černý pigment)

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Fusobacterium sp.

<http://www.geocities.com>



Fusobacterium nucleatum

<http://www.geocities.com>



A petri dish containing a red agar medium. The agar is a deep red color, and there are several dark, irregular spots of bacterial growth scattered across the surface. The petri dish is placed on a light-colored surface.

*Leptotrichia
buccalis*

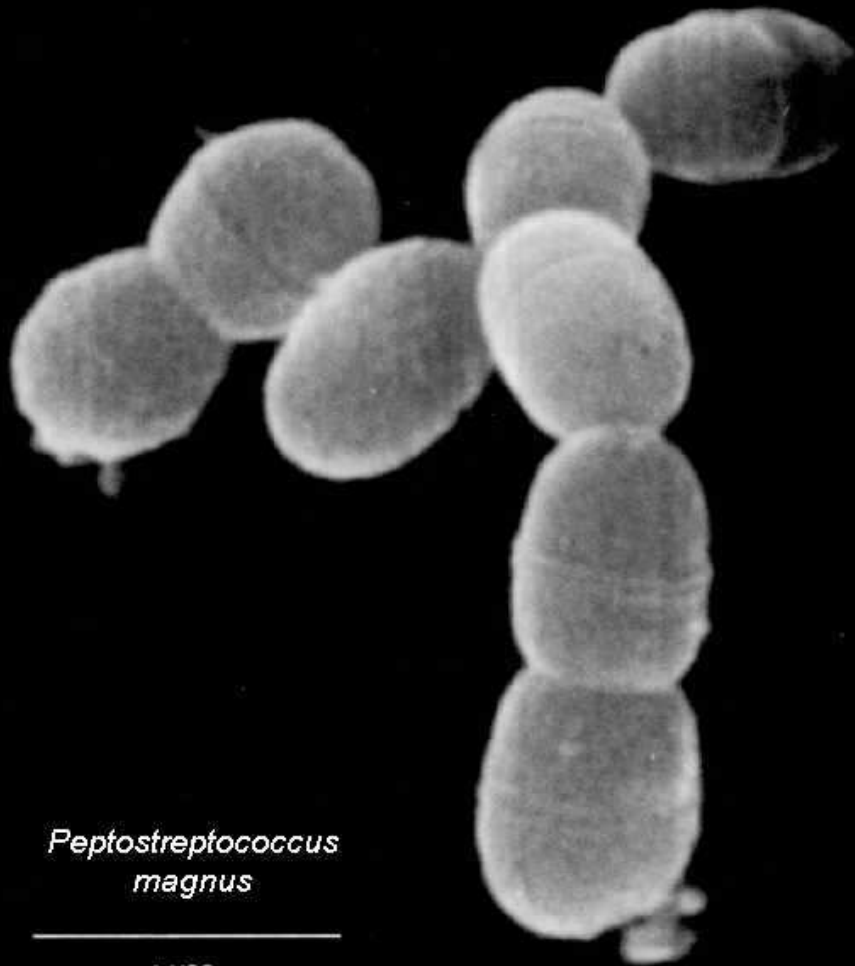
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

Peptostreptococcus sp.



Peptostreptococcus magnus

www.zuova.cz



*Peptostreptococcus
magnus*

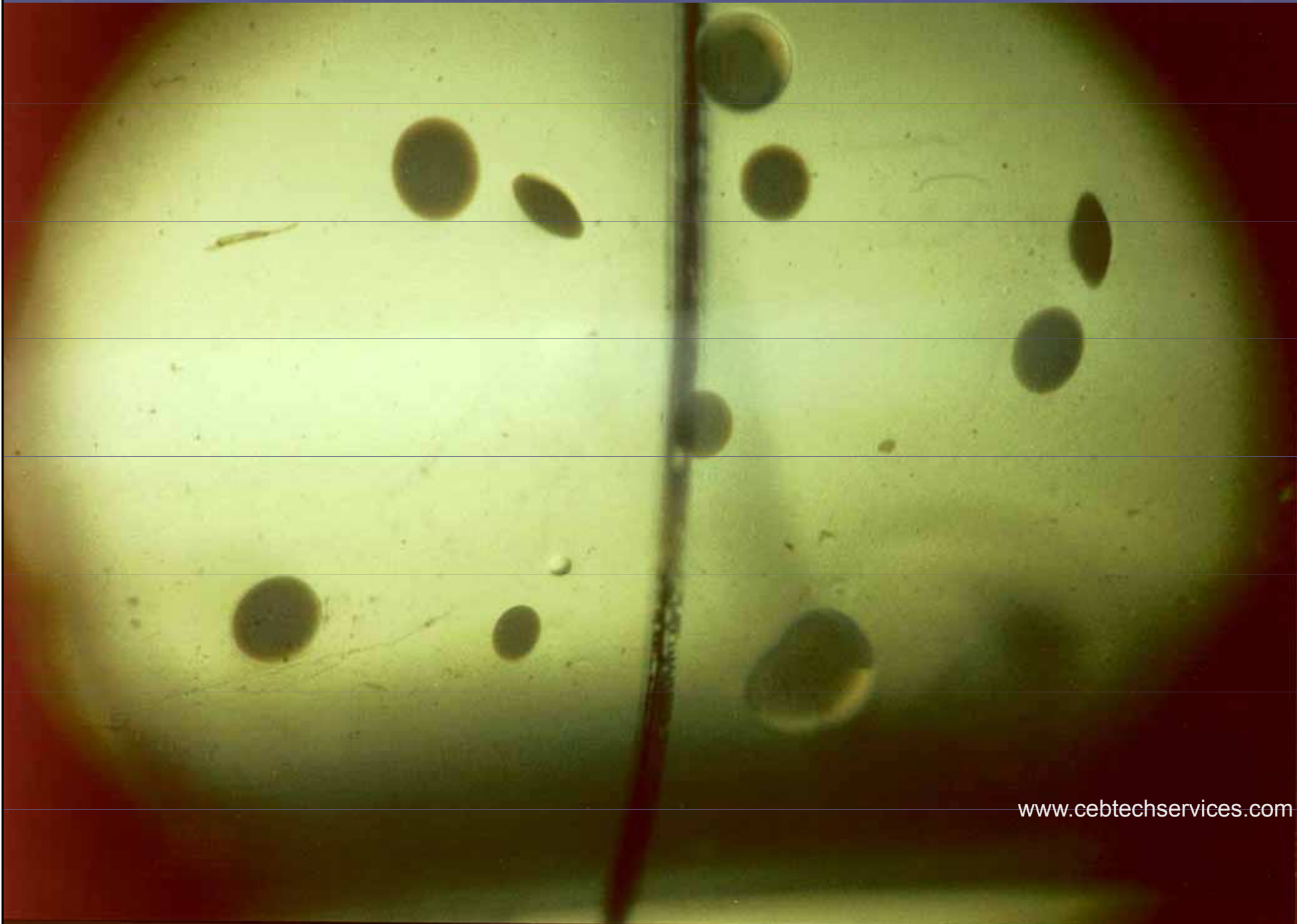
µm



www.szu.cz

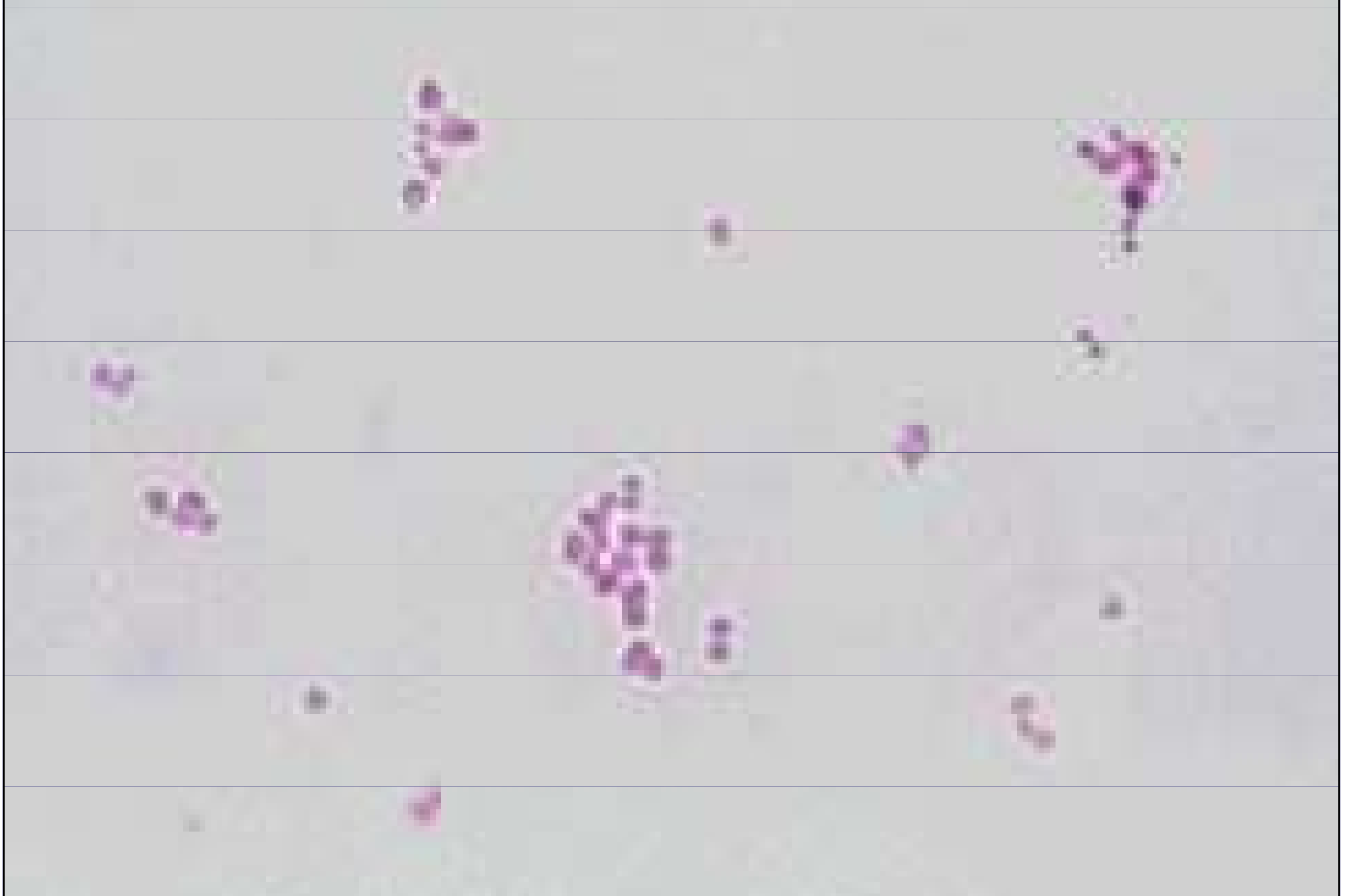
Peptostreptococcus anaerobius

Peptococcus constellatus



Veillonella sp.

<http://www.primmer.ru>



A microscopic image showing numerous dark, rod-shaped Clostridia bacteria. The bacteria are scattered across the field of view, with some appearing as single rods and others in small clusters. The background is a light, grainy texture.

2. Klostridia

Úvod: Mikulecké pole trochu jinak

Mikulecké pole

hluboko zorané

Nejedno *Clostridium tetani*

v tom poli je schované

V poli je schované

zalezlé ve spoře

Čeká až syneček nějaký

to pole zas pooře...

(Zpívá se jako

normální Mikulecké

pole od Fanoša

Mikuleckého)

S takým klostridiem

Nedobře kočkovat

Nechaj sa, synečku zavčasú

pořádně přeočkovat...



Copyright © 2001 Dennis Kunkel Microscopy, Inc. / Dennis Kunkel

Základní charakteristika

- Klostridia jsou **G+ sporulující tyčinky**. Jsou také striktně anaerobní, některá dokonce ve vegetativní formě snášejí ještě méně kyslíku než nesporulující anaeroby. Tvoří ale spory, a ve stadiu spory mohou přežívat nejen kyslík, ale i „mnohem horší věci“
- Mohou takto přežít dlouhodobé vyschnutí, vysoké teploty či desinfekci. Jsou ale o něco méně odolné než spory bacilů.
- Endospory mohou mít různou **polohu**, což lze využít v diagnostice

Klinická charakteristika

- Mnohá klostridia se vyskytují **ve střevě** za normálních okolností. Škodit začnou při přemnožení, pokud jde o kmen produkující střevní toxiny
- Jejich patogenita se odvíjí především od toxinů působících na nervovou soustavu (tetanus, botulismus), ve tkáni (plynatá sněť) či ve střevě (různé toxiny různých klostridií)
- Více v dalším povídání o jednotlivých klostridiích

Přenos infekce

- Na rozdíl od nesporulujících anaerobů je mnohem jednodušší přenos, neboť spory mohou přežívat ve vnějším prostředí
- U **tetanu** dojde k infekci hlavně při bodné ráně, která je kontaminována půdou či hnojem a je špatný přístup kyslíku (trn, vidle)
- U **plynaté sněti** je zpravidla nutné rozsáhlejší poranění s narušením cév (válka, živelní pohromy)
- U **botulismu** člověk zkonzumuje botulotoxin

Prevence, profylaxe a léčba

- **Prevence** tetanu se děje pomocí očkování (anatoxinem čili toxoidem = toxinem, který je zbaven toxicity, ale má zachované antigenní působení)
- **Profylaxe** tetanu se kromě očkování děje i pasivní imunizací protilátkami. Existuje také pasivní imunizace u plynaté sněti
- Také v **léčbě** lze použít antitoxiny, z antibiotik se používá opět penicilin. U plynatých snětí je zásadní okysličení ložiska. U botulismu a tetanu je nutno pečovat o celkový stav pacienta

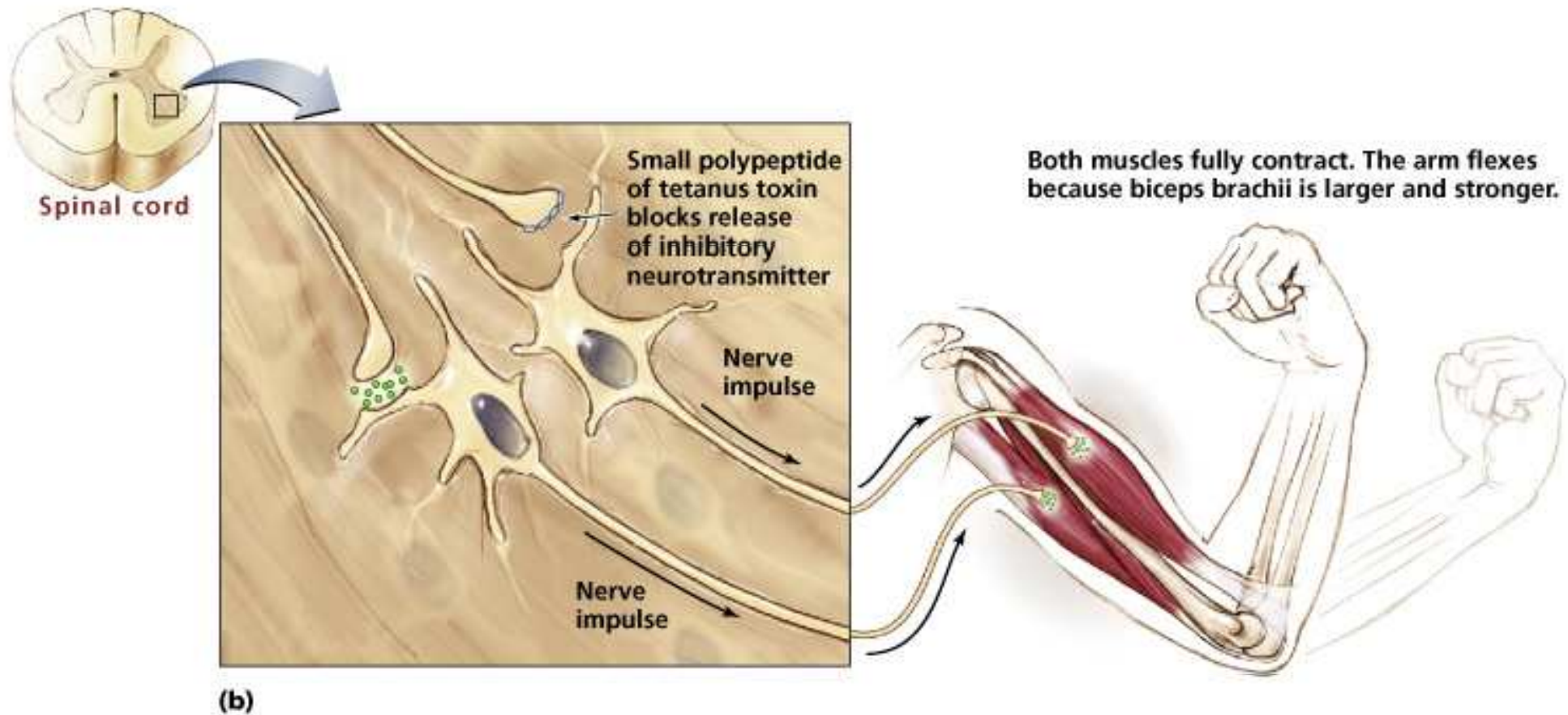
Příběh první

- Paní Kapustová byla celé dny k vidění v zahradě. Byl to její velký koníček. Jednou se zranila na ruce, kvůli **špičatému zbytku nějaké rostliny, ukrytému v půdě**. Šla ke svému obvodnímu lékaři.
- Obvodní lékař lokálně ošetřil ránu, a pak jí doporučil **přeočkování** proti jisté vážné chorobě
- Kdyby tu chorobu dostala, bylo by to velmi nebezpečné, mohlo by to znamenat i **křeče** jejího těla

Neurotoxická klostridia

- Zločinec, který hrozil paní Kapustové, byl *Clostridium tetani*, původce tetanu. Nemoc je typická místním drobným zánětem, a celotělovým šířením toxinu. Toxin vyvolává křeče.
- Další neurotoxické klostridium je *Clostridium botulinum*, původce botulismu. Zde původce vůbec nevstupuje do těla. Jen jeho toxin vstupuje do těla (zpravidla z nedostatečně upraveného konzervovaného masa) a opět účinkuje jako neurotoxin, zde však vyvolává obrny.

Tetanus



Tetanus

www2.bc.cc.ca.us



Tetanický muž



Ještě jednou tetanus

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

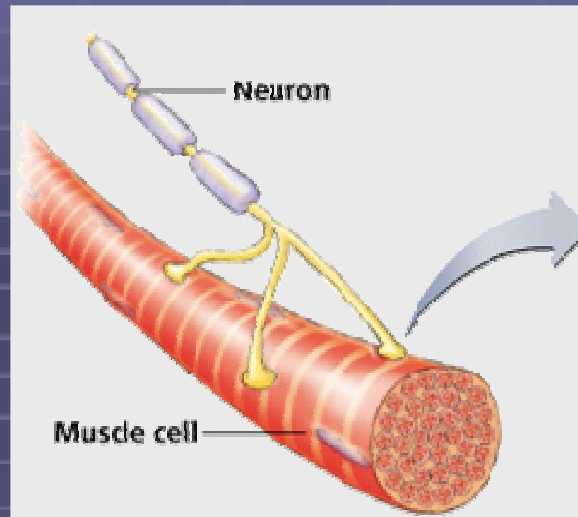


Trismus (křeč čelistních svalů)

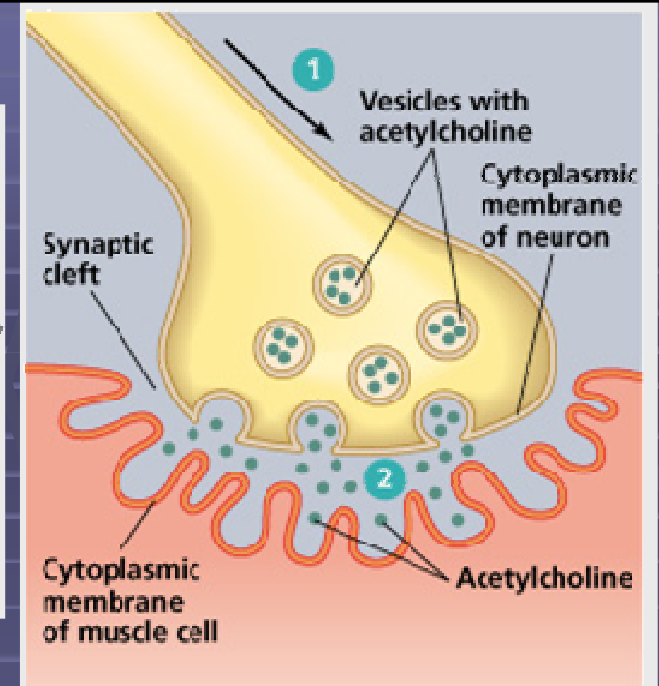
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



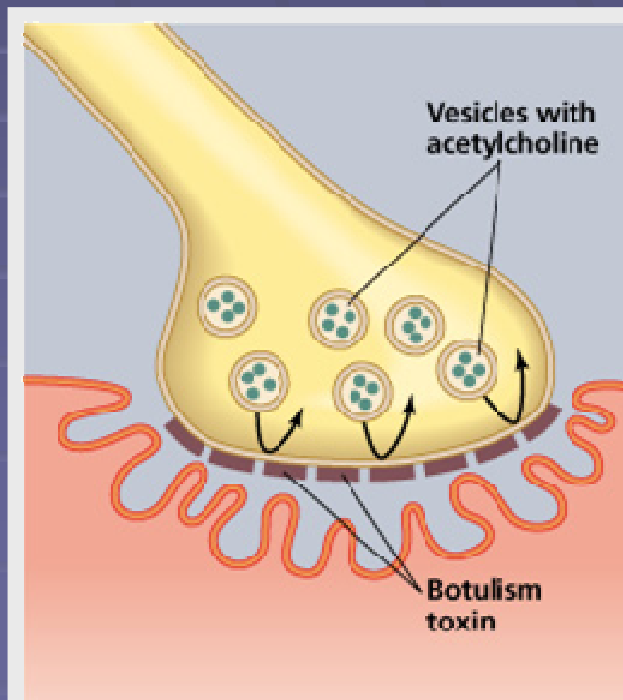
Botulismus



www2.bc.cc.ca.us

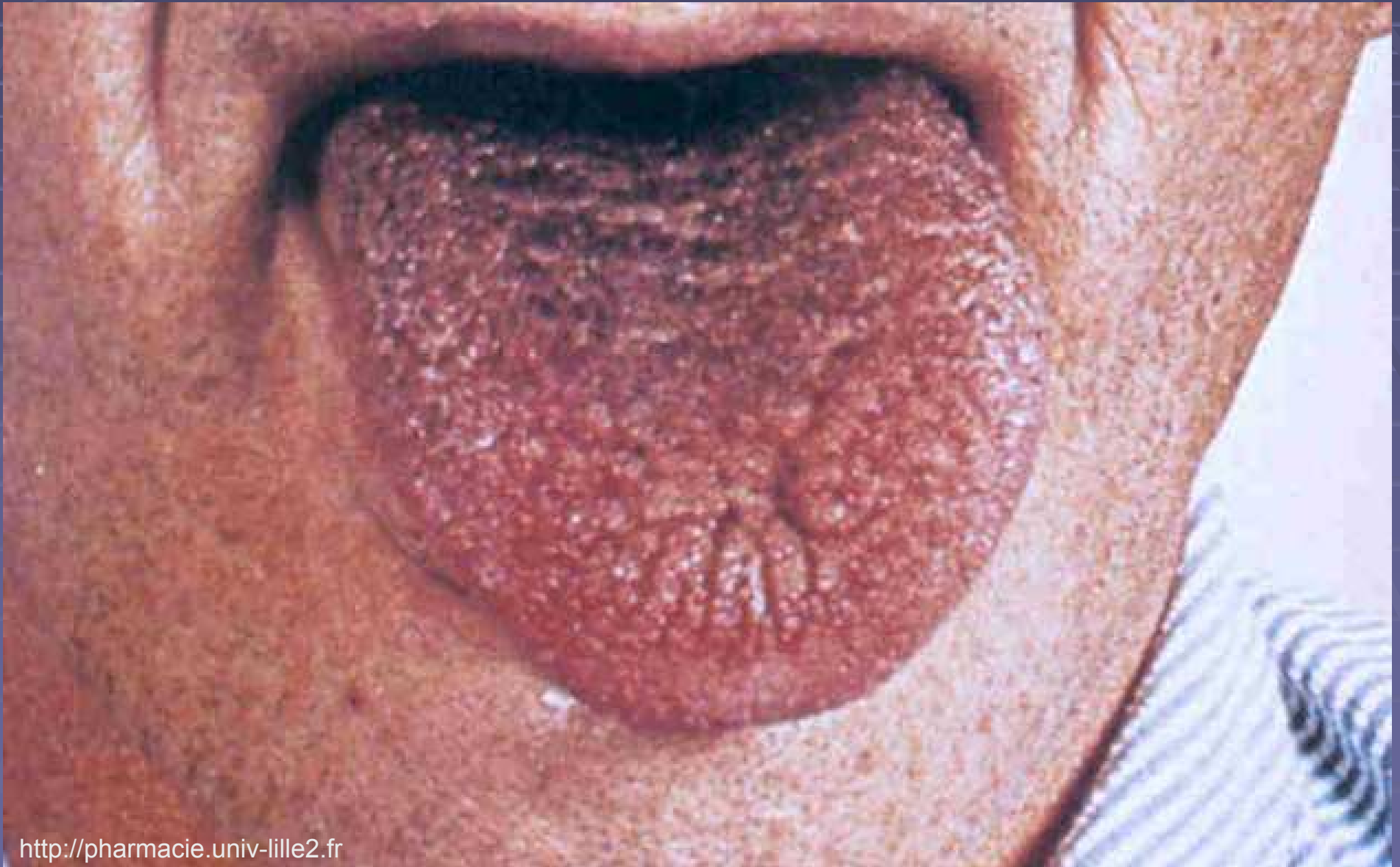


(a) Normal neuromuscular junction



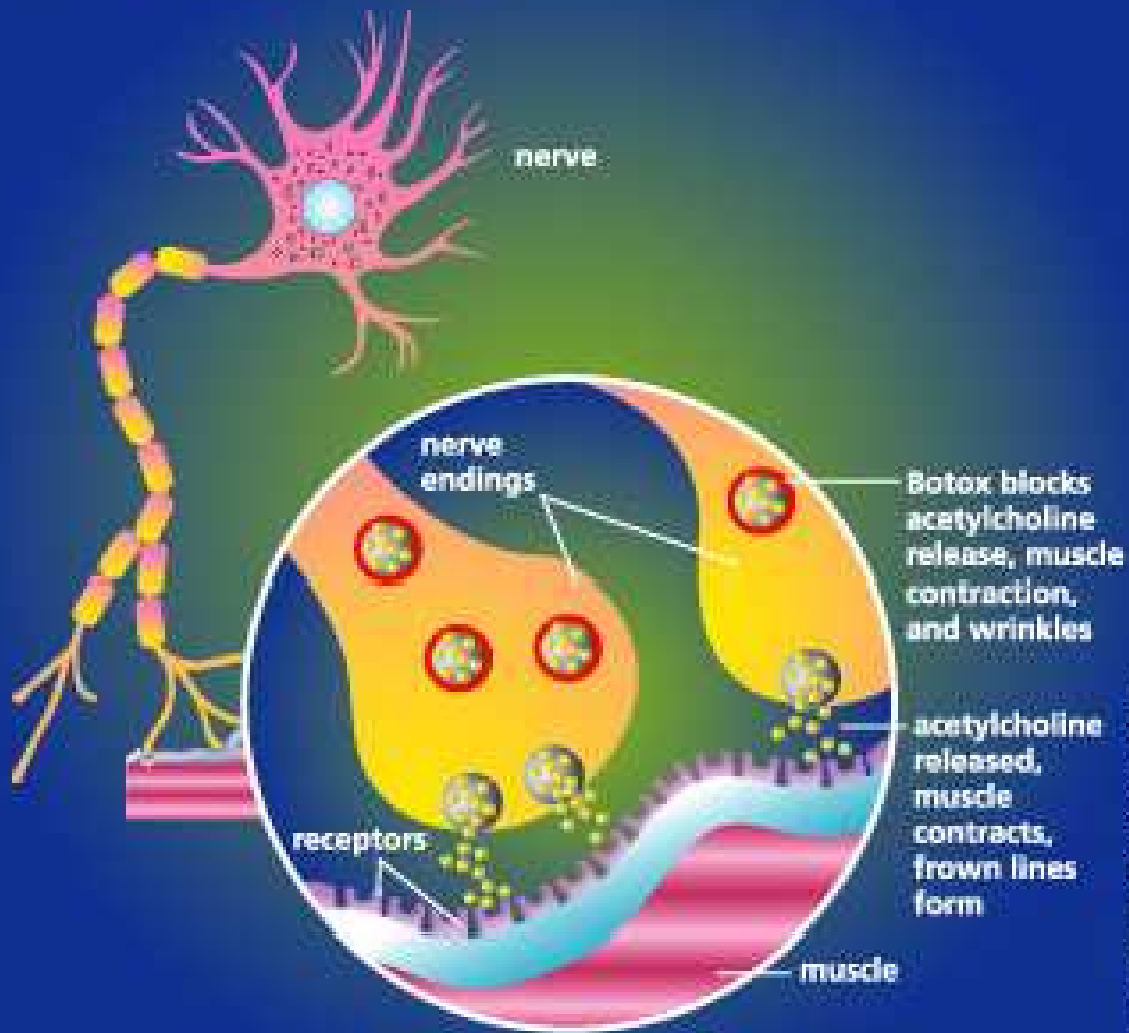
(b) Neuromuscular junction with botulism toxin present

Typický vzhled jazyka při botulismu



Botox: použití jedu *Clostridium botulinum* pro mladistvý vzhled

How Botox Works



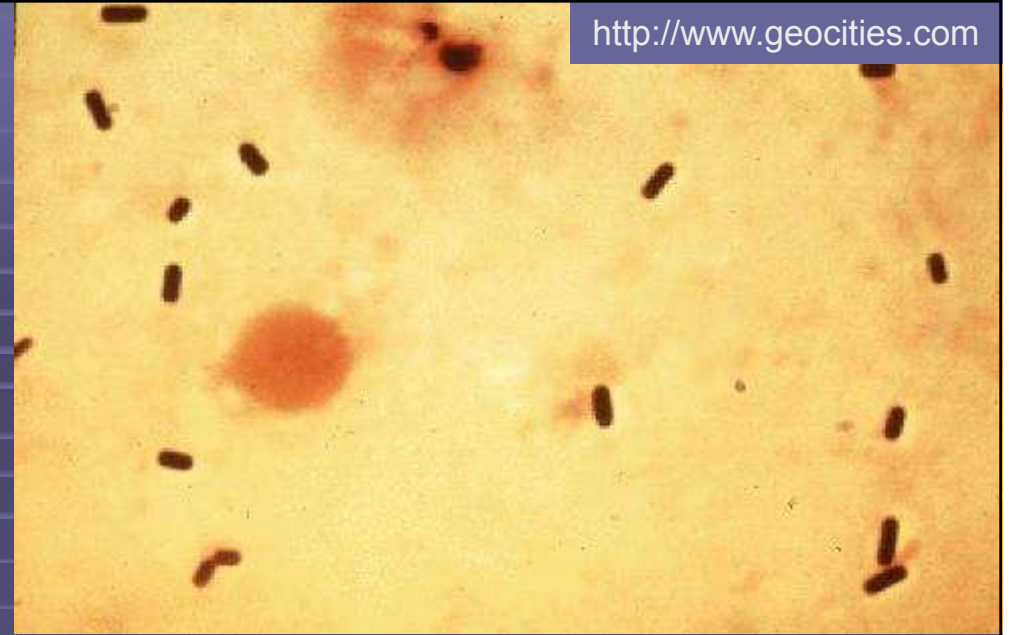
Infographic by Remée Gordon

Příběh druhý

- Mustafa, kosovský Albáanec, se rozhodl, že navštíví svého bratrance v sousední vesnici. Pole, přes které se vydal, již mělo být odminováno. Přesto se jedna nevybuchlá mina ještě našla. Střepina, špinavá od bláta, se Mustafovi zasekla hluboko do stehna.
- Za několik dní byl Mustafa přijat do jedné z polních nemocnic. Stehno měl zduřelé a při poklepu byl slyšitelný zvuk praskajících bublinek. Mustafa byl hned operován.



Viníkem je tentokrát

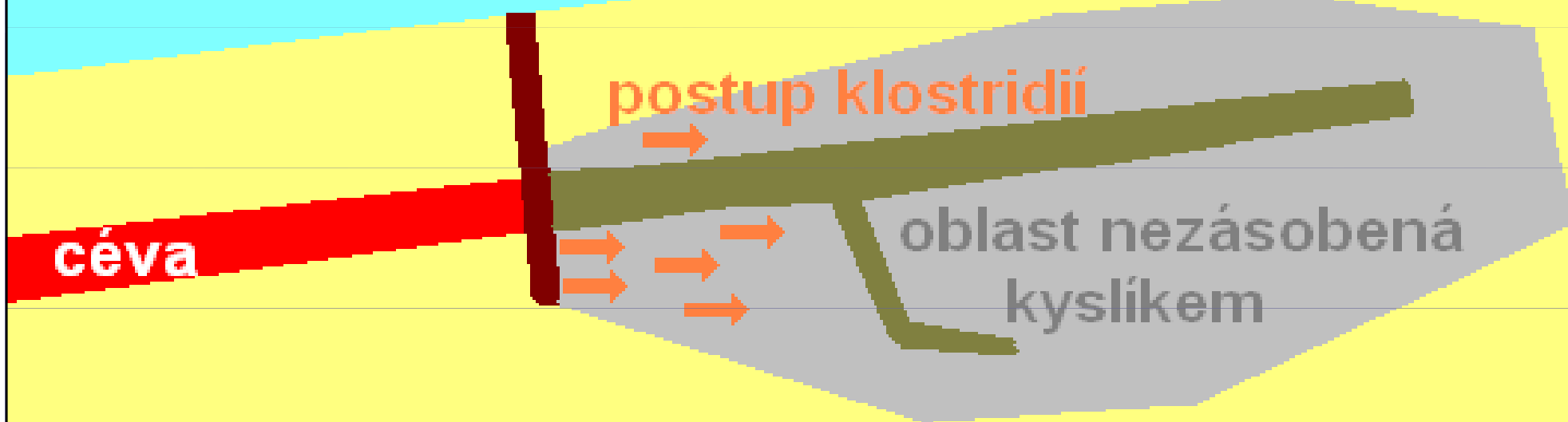


- *Clostridium perfringens*, jeden z původců plynaté sněti (spolu s *C. novyi*, *C. septicum* aj.)
- Plynatá sněť je typické válečné onemocnění. Může se však vyskytnout i v dobách míru, například při živelných pohromách
- Klostridia plynatých snětí – respektive jejich enterotoxiny – se také uplatňují jako patogeny ve střevě

Vznik plynaté sněti



zranění



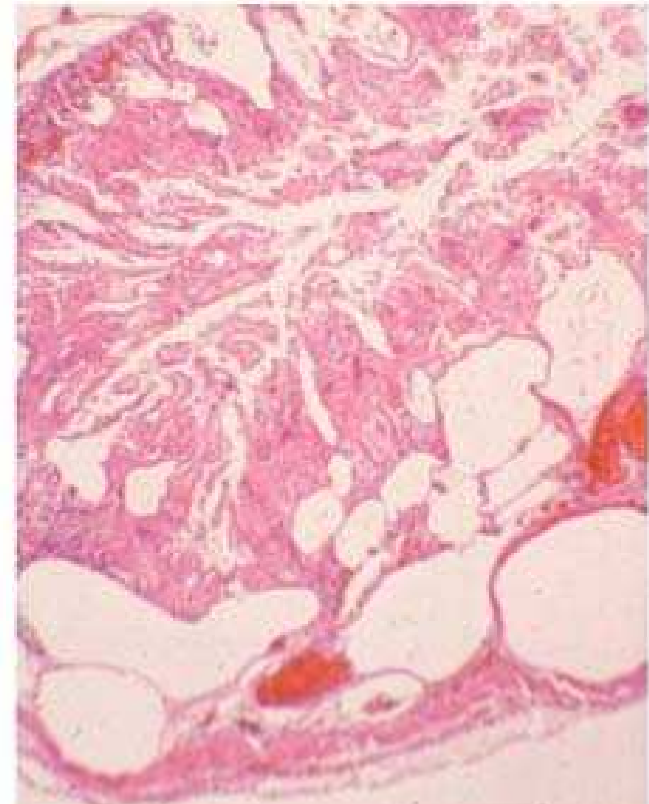
Nekrotizující enterokolitida – i to může způsobovat *C. perfringens*

豚の壊死性腸炎 (Necrotic enteritis)

左: 小腸は出血しており、結腸には菌の産生したガスによる嚢胞が見られる。

右: 空腸の組織像。絨毛は壊死に陥り、固有層にはガスによる空胞が見られる。

<http://www.niah.affrc.go.jp>



Příběh třetí

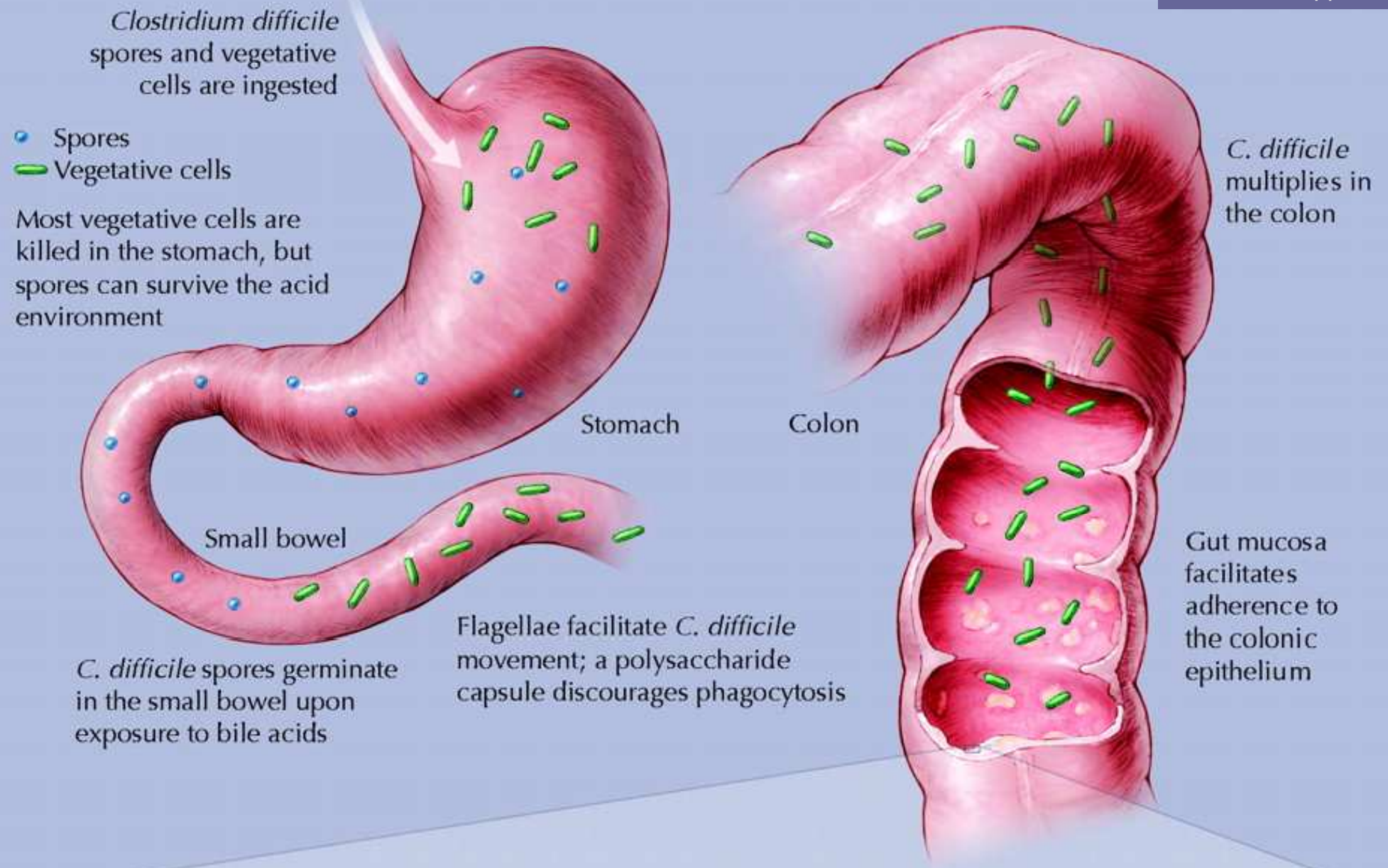
- Pan Kostečka ležel už třetí týden v nemocnici pro bakteriální zánět kostní dřeně. Zánět mu léčili klindamycinem, linkosamidovým antibiotikem. Náhle pan Kostečka dostal těžký průjem. Na oddělení zrovna neměli metronidazol, a tak sáhli po staré metodě: dali panu Kostečkovi vypít ampulku vankomycinu, antibiotika, které se normálně podává pouze injekčně, protože se nevstřebává ze střeva.

Viníkem je

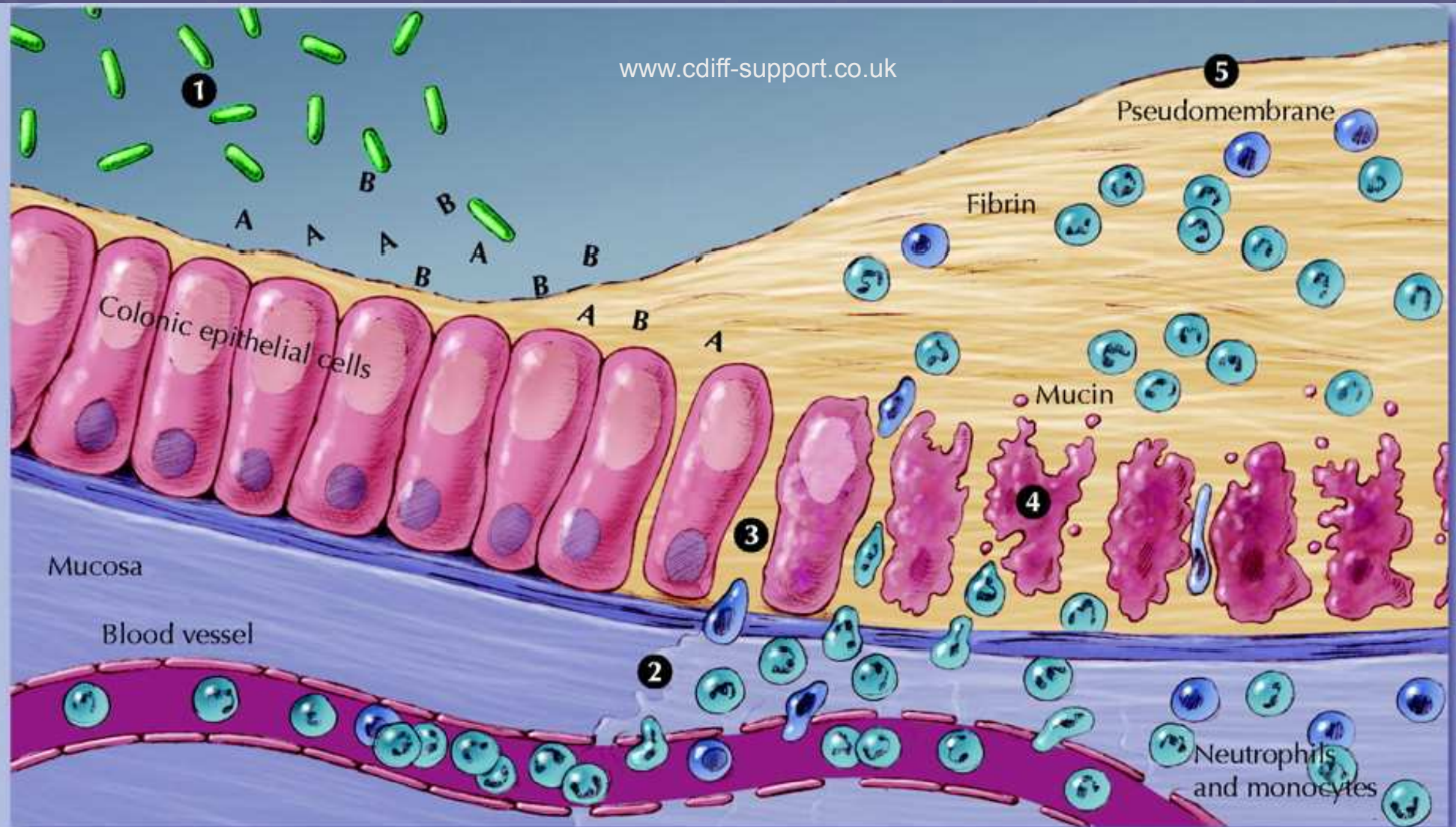
- *Clostridium difficile*, respektive jeho toxin
- Tento mikrob se vyskytuje ve střevě celkem běžně, problém však je, když začne produkovat toxin, a především, když mu někdo odstraní konkurenci a on se přemnoží.
- Odstranění konkurence způsobí nejčastěji léčba některými typy antibiotik, nejčastěji linkosamidy. Linkosamidy jsou účinné proti většině striktně anaerobních bakterií, nikoli však proti *C. difficile*.
- Dnes se k léčbě používá nejčastěji bakteriální chemoterapeutikum metronidazol

Clostridium difficile a jeho činnost I

www.cdifff-support.co.uk



Clostridium difficile a jeho činnost II



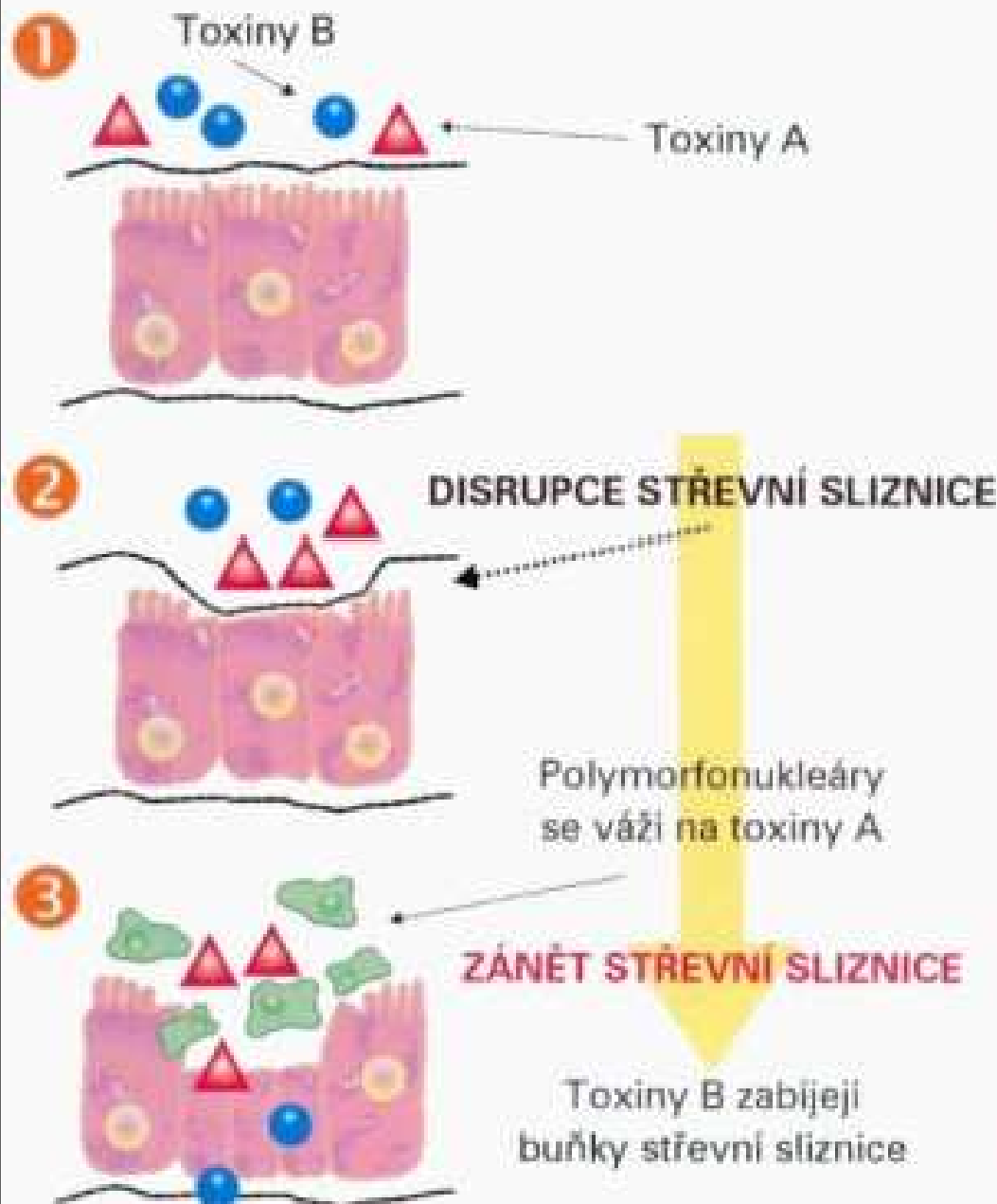
C. difficile vegetative cells produce toxins A and B and hydrolytic enzymes (1). Local production of toxins A and B leads to production of tumour necrosis factor-alpha and proinflammatory interleukins, increased vascular permeability, neutrophil and monocyte recruitment (2),

opening of epithelial cell junctions (3) and epithelial cell apoptosis (4). Local production of hydrolytic enzymes leads to connective tissue degradation, leading to colitis, pseudomembrane formation (5) and watery diarrhea.

Toxiny *Clostridium difficile*

Toxiny *Clostridium difficile*

www.zuova.cz



Pseudomembranózní kolitida

www.zuova.cz

sitemaker.umich.edu

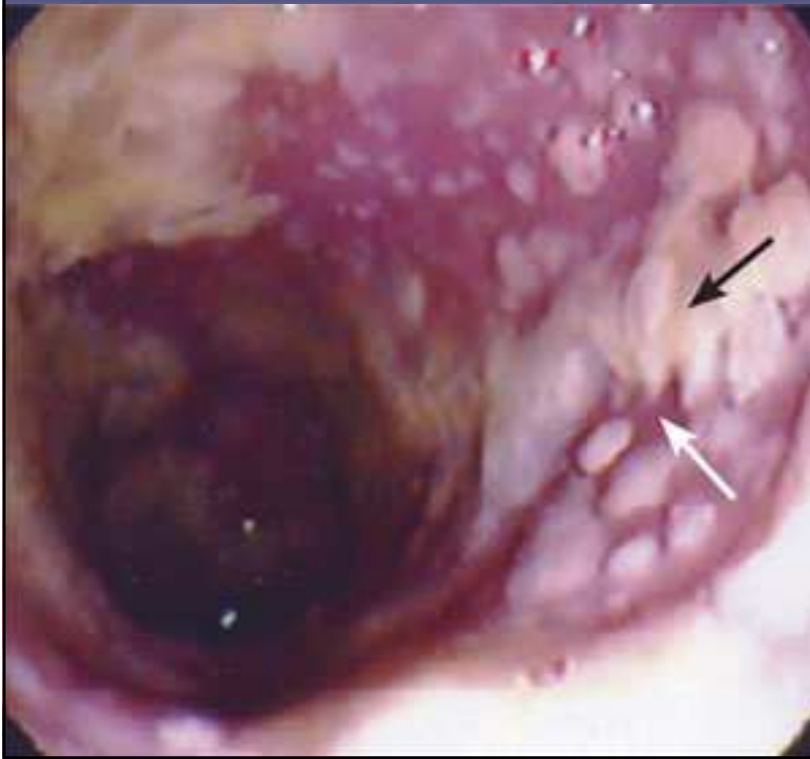


Figure 2. Colon Specimen Obtained during a Colectomy in a Patient with Pseudomembranous Colitis.

Characteristic raised, adherent yellow plaques that vary in size from 2 to 10 mm are visible on the colonic mucosa. The intervening mucosa is hyperemic but not ulcerated.

Klostridia – přehled



C. tetani

Původce tetanu

C. botulinum

Producent botulotoxinu

Clostridium perfringens, *C. septicum*, *C. welchii* a aj.

Klostridia plynatých snětí
(+ enteropatogenita)

C. difficile

Enteropatogenní

Je potřeba si uvědomit, že i klostridia se úplně normálně podílejí na běžné střevní mikroflóře. Problém nastává, pokud se přemnoží, dostanou tam, kam nemají, vyskytne se kmen produkující velké množství toxinu apod.

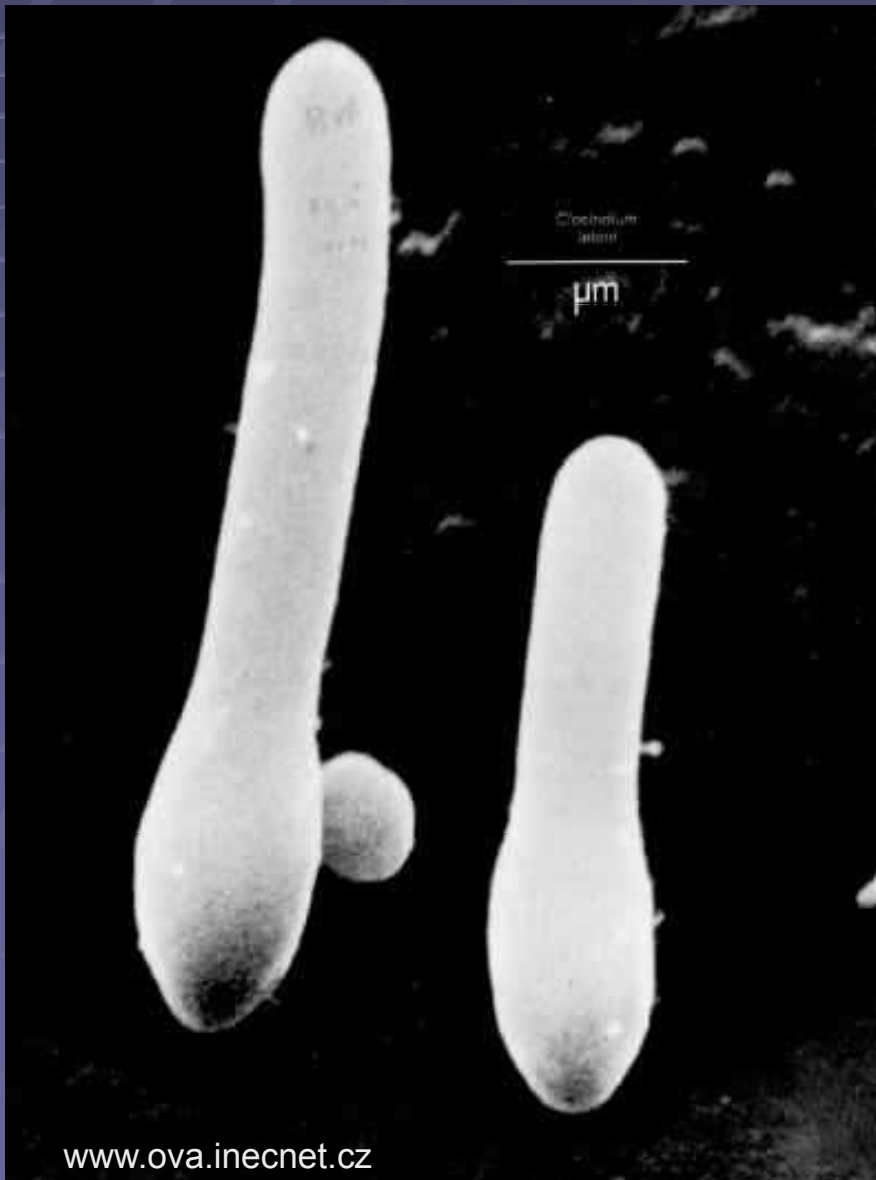
Přehled zločinců: *Clostridium tetani*

<http://www.geocities.com>



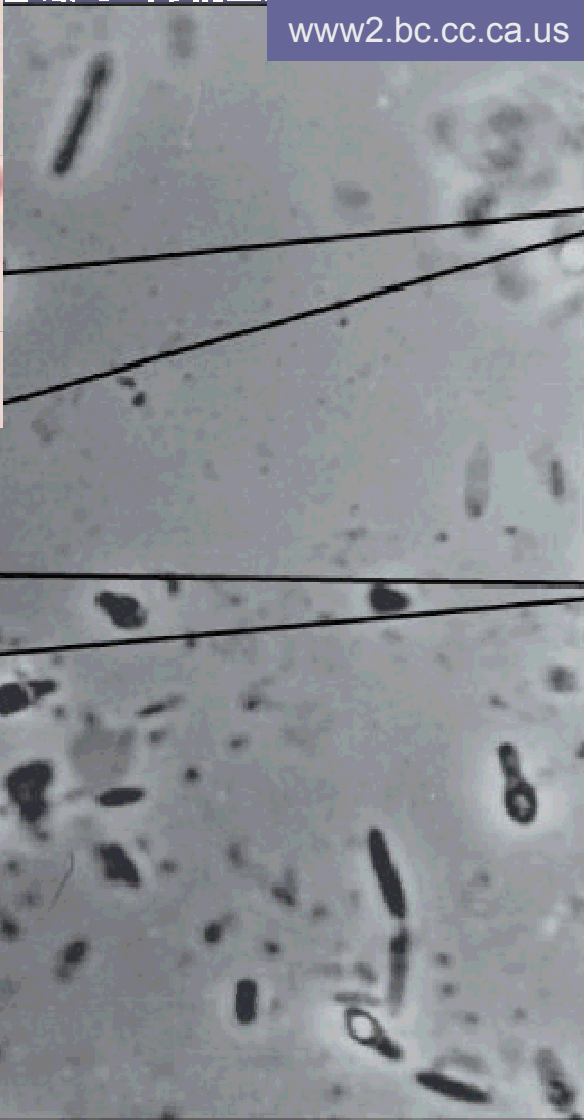
Clostridium tetani

www.zuova.cz



www.ova.inecnet.cz

C. botulinum



Vegetative cells

Endospore-bearing cells

10 μ m

Clostridium perfringens

<http://www.geocities.com>



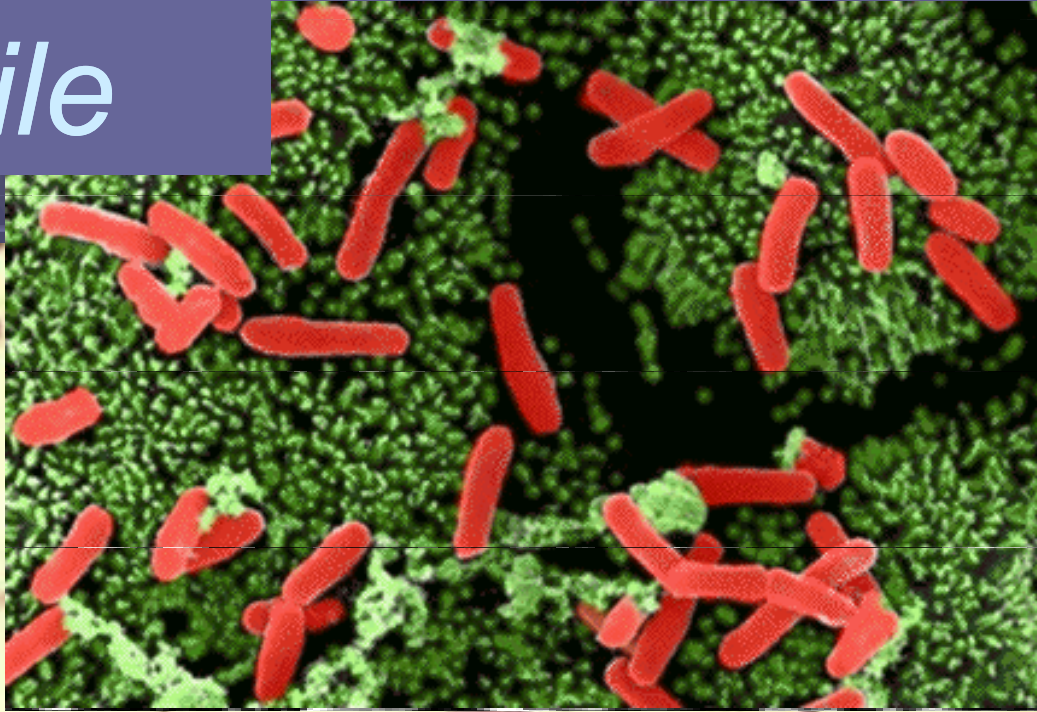


*Clostridium
septicum*

Clostridium difficile

sitemaker.umich.edu

<http://www.health.qld.gov.au>



<http://medecinepharmacie.univ-fcomte.fr>

Clostridium difficile



Clostridium scindens



Clostridium innocuum

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Jak pátrat po těch divných týpcích z Anaerobní čtvrti – I

- Mikroskopie: Má větší význam než u aerobů, vzhledem k morfologické různorodosti
- Kultivace: Je nutno zajistit anaerobiózu pomocí anaerostatů či anaerobních boxů. U tekutých půd postačuje přelití parafinem. Používá se VL (viande levure) bujón, VL krevní agar a různé speciální půdy
- Biochemie: kataláza a oxidáza většinou negativní, možné vzájemné rozlišení biochemicky, i analýza plynů chromatografií (jsou biochemicky aktivní)
- Antigenní analýza a nepřímý průkaz se v diagnostice anaerobů příliš nepoužívají

Jak pátrat po těch divných týpcích z Anaerobní čtvrti – II

- Pokus na zvířeti se používá u tetanu a botulismu. U tetanu se myš svíjí v křeči, u botulismu jsou naopak patrné parézy.



Tetanická myš

Poznámka k mikroskopii anaerobů: různé tvary anaerobů

- Studenti někdy zaměňují spóru (útvár, který je neprobarvený, resp. jen slabě se rýsují jeho okraje) a ztlustění tyčinky (které se vyskytuje u některých tyčinek, které jsou nesporulující a zpravidla gramnegativní).
- U skutečných sporulujících mikrobů má význam sledovat umístění spór. U *Clostridium tetani* je spóra terminální (na konci umístěná)



vřetenovité ztlustění
("hodinková forma",
často u rodu
Bacteroides)



Poznámka ke kultivaci anaerobů:

Jak získat anaerobiózu

- Mechanicky – VL bujony přelijeme parafinovým olejem
- Fyzikálně – v anaerobním boxu se nahradí vzduch směsí anaerobních plynů, vháněných z bomby
- Chemicky – v anaerostatu se
 - z organických kyselin tvoří vodík a CO_2
 - v druhé fázi na palladiovém katalyzátoru reaguje vodík s kyslíkem za vzniku vody, takže se kyslík spotřebovává

Přelévání VL-bujonů parafinem



Anaerobní box



Anaerostat

(uvidíte ho ještě jednou)

Palladiový kalalyzátor
(pod víčkem) nezbytný
pro druhou fázi reakce

Generátor anaerobiózy
(sáček s chemikáliemi)
nutný pro celou reakci



Anaerostat

podrobnější popis

vzduchotěsné víčko

palladiový kalalyzátor
(pod víčkem)

konstrukce pro
ukládání Petriho misek

Generátor anaerobiózy
(sáček s chemikáliemi)



šroubovací
uzávěr

tlakový
ventil

Anaerostat jiné provenience

Fusobacterium sp.



<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Biochemické rozlišení

- Používají se různé testy, v našich podmínkách především ANAEROtest 23 Lachema.

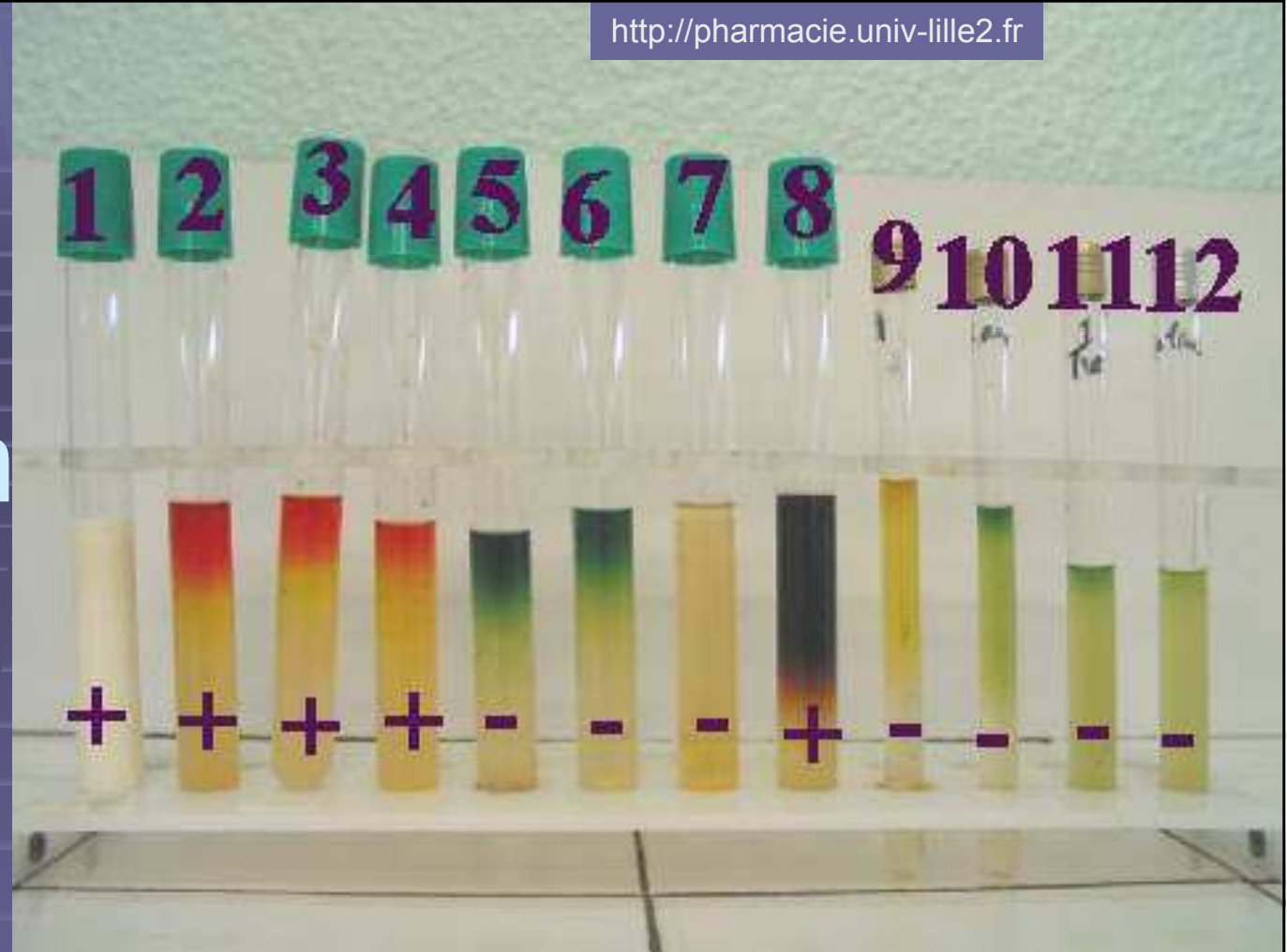


Kódová kniha je rozdělená na několik částí podle morfologie anaerobních bakterií. Je třeba hledat v té správné části kódové knihy

Anaerotest - příklad odečítání

+ 1	- 1	+ 1	+ 1	- 1	- 1	-	+
- 2	+ 2	+ 2	- 2	+ 2	- 2	-	-
+ 4	- 4	+ 4	+ 4	+ 4	- 4	+	-
5	2	7	5	6	0		

Ukázky různých zahranických testů pro identifikaci anaerobů



Testy antibiotické citlivosti

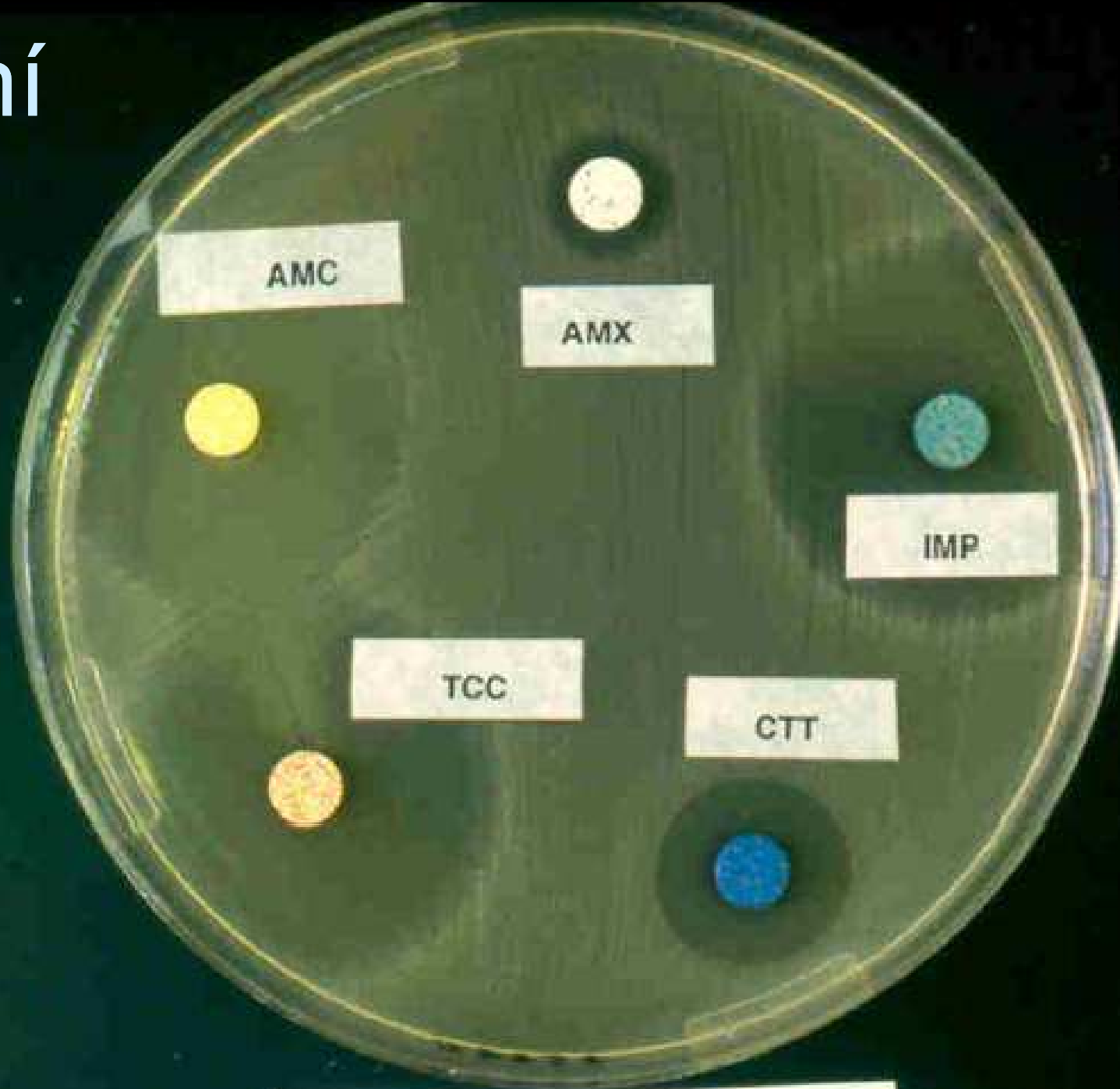
- Antibiotická citlivost se u anaerobů určuje na půdách, na kterých jsou schopny růst, tj. nikoli na MH agaru, ale zpravidla na VL krevním agaru
- Lékem volby u většiny anaerobů je opět klasický penicilin. Rezistentní je však rod *Bacteroides* (v užším slova smyslu – rody *Prevotella* a *Porphyromonas*, které se z něj kdysi odštěpily, jsou citlivé)

Typické citlivosti

- Typické je, že mnohé anaeroby jsou rezistentní na vankomycin. Zároveň jsou přitom citlivé na „slabší“ antibiotika, jako je penicilin či metronidazol (na snímku)



Ilustrační foto



B. fragilis ATCC 25285

Průkaz tvorby lecitinázy – specialita v diagnostice *C. perfringens*

- Tvorba lecitinázy se projeví precipitací kmene na žloutkovém agaru. Protože však lecitináz je mnoho a nás zajímá pouze lecitináza *Clostridium perfringens*, prověřujeme, zda je lecitináza inhibovatelná specifickým antitoxinem.

„Negativní I“
vůbec
neprodukuje
lecitinázu.

„Negativní II“
produkuje, ale
nějakou jinou,
než nás zajímá



pozitivní
negativní I
negativní II

↳ **půlka s antitoxinem**

3. Mykobakteria, aktinomycety, nokardie



Úvod: Plivátka v boji proti TBC

V době první republiky vyvinula společnost za osobní angažovanosti prezidenta Masaryka a jeho „Ligy proti tuberkulóze“ velké úsilí v boji proti této nemoci. Významnou součástí byla osvěta, aby lidé neplivali na zem, ale používali plivátka.



Základní charakteristika

- Acidorezistentní bakterie se vyznačují **zvláštním typem buněčné stěny**. Je odvozena od grampozitivní stěny, ale obsahuje velké množství mykolových kyselin, které jsou hydrofobní.
- Mezi acidorezistentní tyčinky patří zejména **mykobakteria**, tedy původci TBC i jiných nemocí
- Částečně acidorezistentní jsou rody ***Actinomyces*** a ***Nocardia***

Klinická charakteristika

- Způsobují **specifická onemocnění**, odlišná od onemocnění působených jinými mikroby
- Zejména **tuberkulóza** má specifický průběh, také imunitní reakce je zvláštní (převažuje **buněčná imunita**)
- **Lepra** je rovněž velmi zvláštní onemocnění
- **Atypická mykobakteria** způsobují choroby s nálezem tzv. granulomů
- **Aktinomycety a nokardie** vyvolávají hnisavá onemocnění různých tkání
- Všechna zmíněná onemocnění trvají **dlouho**

Přenos infekce

- **Tuberkulóza** se přenáší zejména kašláním či kapénkovou infekcí
- **Atypické mykobakteriózy a nokardióza** se přenášejí nejspíše přímým kontaktem s kontaminovanou půdou, vodou a podobně
- **Aktinomykóza** je často endogenního původu, jelikož původce je anaerobní

Léčba

- K léčbě TBC se používají zvláštní látky, zvané **antituberkulóza**. Jen některé z nich se používají zároveň i jako antibiotika. Speciální preparáty se používají i k léčbě lepry
- U aktinomykózy a nokardiózy se používají **běžná antibiotika, zejména penicilin**. Léčba však musí být dlouhodobá

- Honza již několik let věděl, že je HIV pozitivní. Dobře věděl, že je mnohem zranitelnější než ostatní lidé, že ho každá infekce dostihne rychleji než jiné
- Přesto ho zaskočilo, že v poslední době začal kašlat. Jeho ošetřující lékaři zkoušeli různé možnosti, až nakonec na základě rentgenu, PCR vyšetření a kultivačního vyšetření dospěli k názoru, že se jedná o miliární (zrnkovitou) formu tuberkulózy.

Příběh první



Viníkem zde bylo

- *Mycobacterium tuberculosis*, i když TBC může způsobovat i například *Mycobacterium bovis*.
- Zajímavostí tohoto mikroba je záliba v životě uvnitř buněk. S tím také souvisí skutečnost, že na mykobakteria se špatně tvoří protilátková odpověď (takže se nedá prokazovat antigen ani protilátky) a že hlavní slovo má buněčná imunita – i při vakcinaci.
- Jelikož při HIV infekci je právě buněčná imunita postižena, je TBC jednou z oportunních infekcí.

Tuberkulóza

- Při prvotním styku s infekcí dojde ke vzniku tzv. **primárního komplexu**. Je to ložisko (obvykle v plicích) a k němu přiléhající mízní uzlina. Zpravidla vznikne granulomatózní útvar, který později podléhá kaseifikaci („zesýrovatění“) a pak už se dále nezvětšuje. Paradoxně za většinu škod v organismu může reakce hostitelského organismu (pozdní přecitlivělost – vlastně druh alergie)
- Po letech se může ložisko znovu **aktivizovat**, zejména ve stáří, při podlomení imunity, nebo i při abúzu alkoholu. Takový člověk může být velmi nebezpečný pro své okolí

Skutečný příběh

19. září 2007 15:17

Plzeňští kriminalisté našli muže, který má zřejmě TBC. Lékaři příznaky nemoci identifikovali u sedmačtyřicetiletého Marcela Pfeifera v pondělí, pacient jim slíbil, že přijde druhý den, ale už se neobjevil. Proto po něm bylo vyhlášeno pátrání.

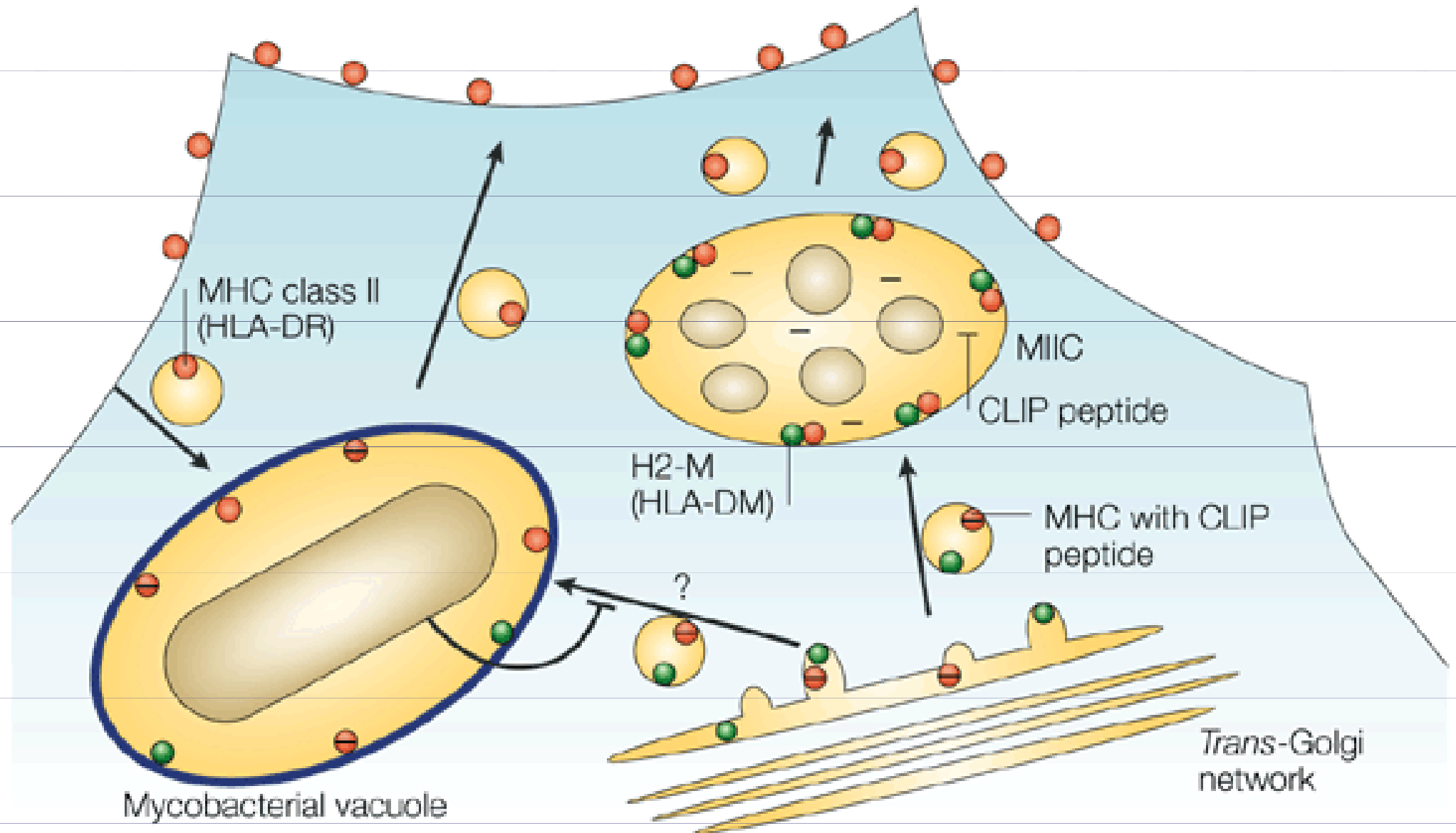
"Nemocný muž se dnes pohyboval po Slovanské třídě, v blízkosti křižovatky s Liliovou ulicí," uvedl mluvčí plzeňské policie Jaroslav Ibehej.

Kriminalistům po zveřejnění pátrání volala řada lidí. Poslední z nich policisty skutečně navedl na místo, kde Pfeifer byl. Nyní ho čeká převoz do zdravotnického zařízení v Janově na Rokycansku.

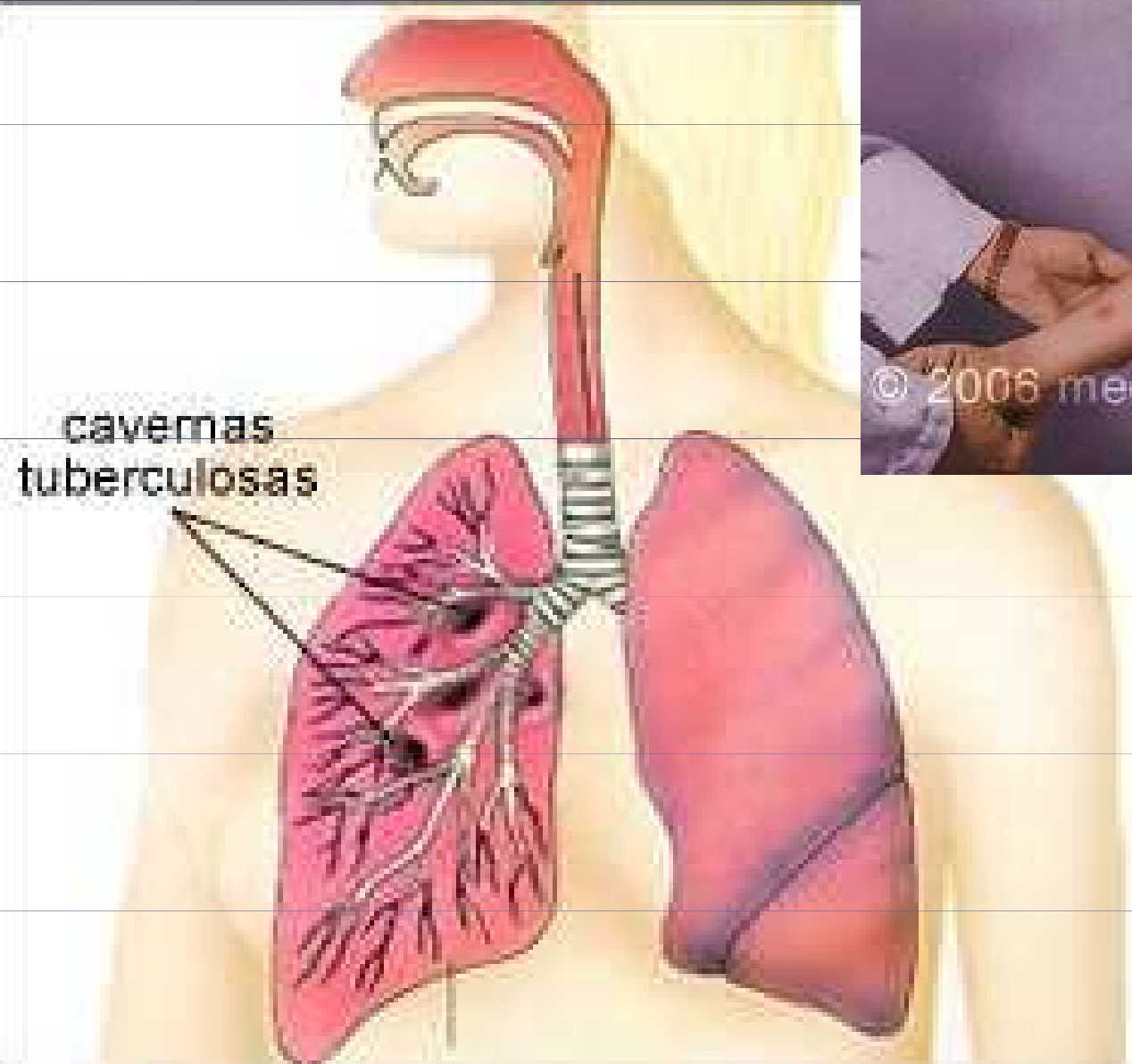
Tuberkulóza je nebezpečné nakažlivé onemocnění. Léčba pomalu se rozvíjející nemoci je velmi zdlouhavá. Po celou dobu je třeba být pod dohledem odborníků.

Kvůli zamezení šíření nákazy musí zdravotníci vyhledávat také lidi, kteří byli v kontaktu s tuberkulózním pacientem.

Mycobacterium uvnitř buňky



Tuberculóza



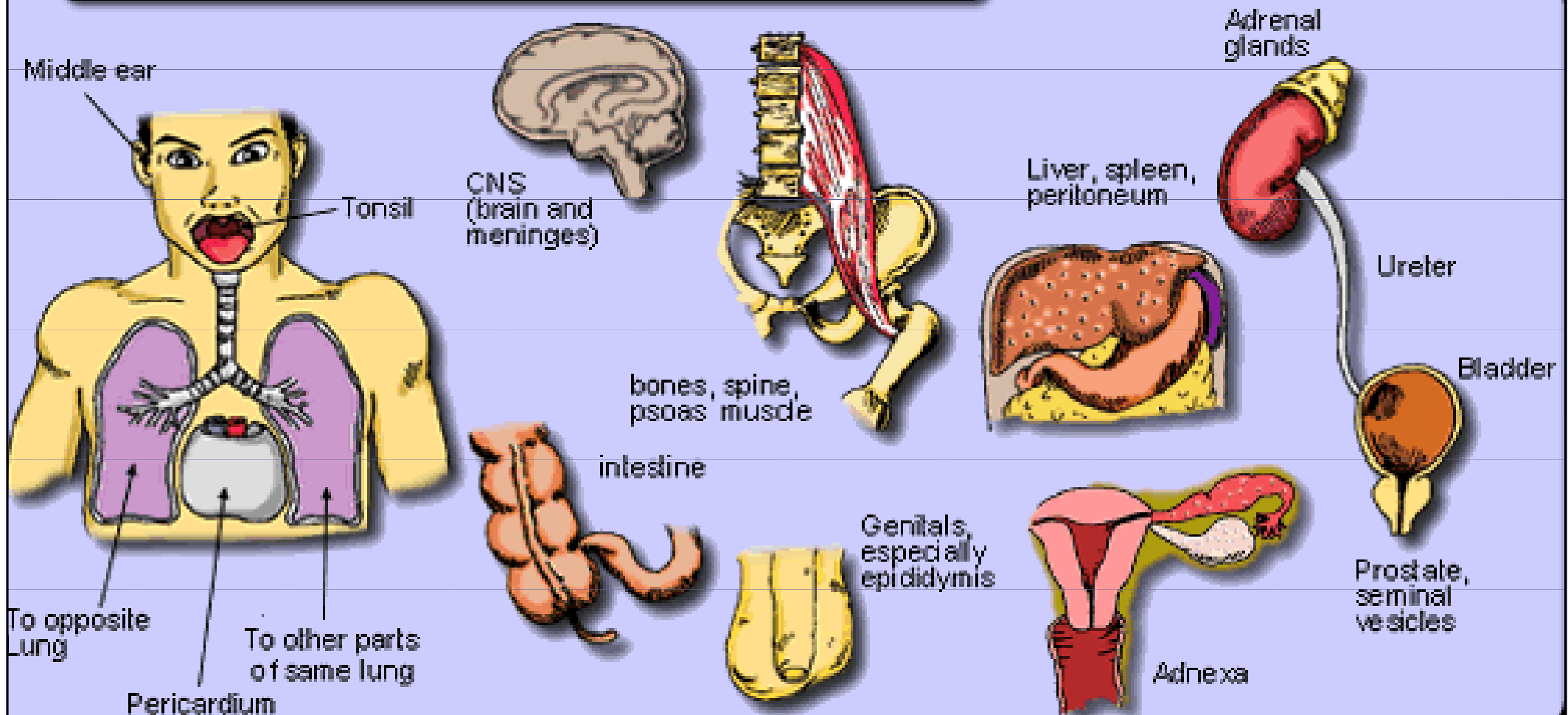
<http://www.stockmedicalart.com>

Není jen plicní forma TBC

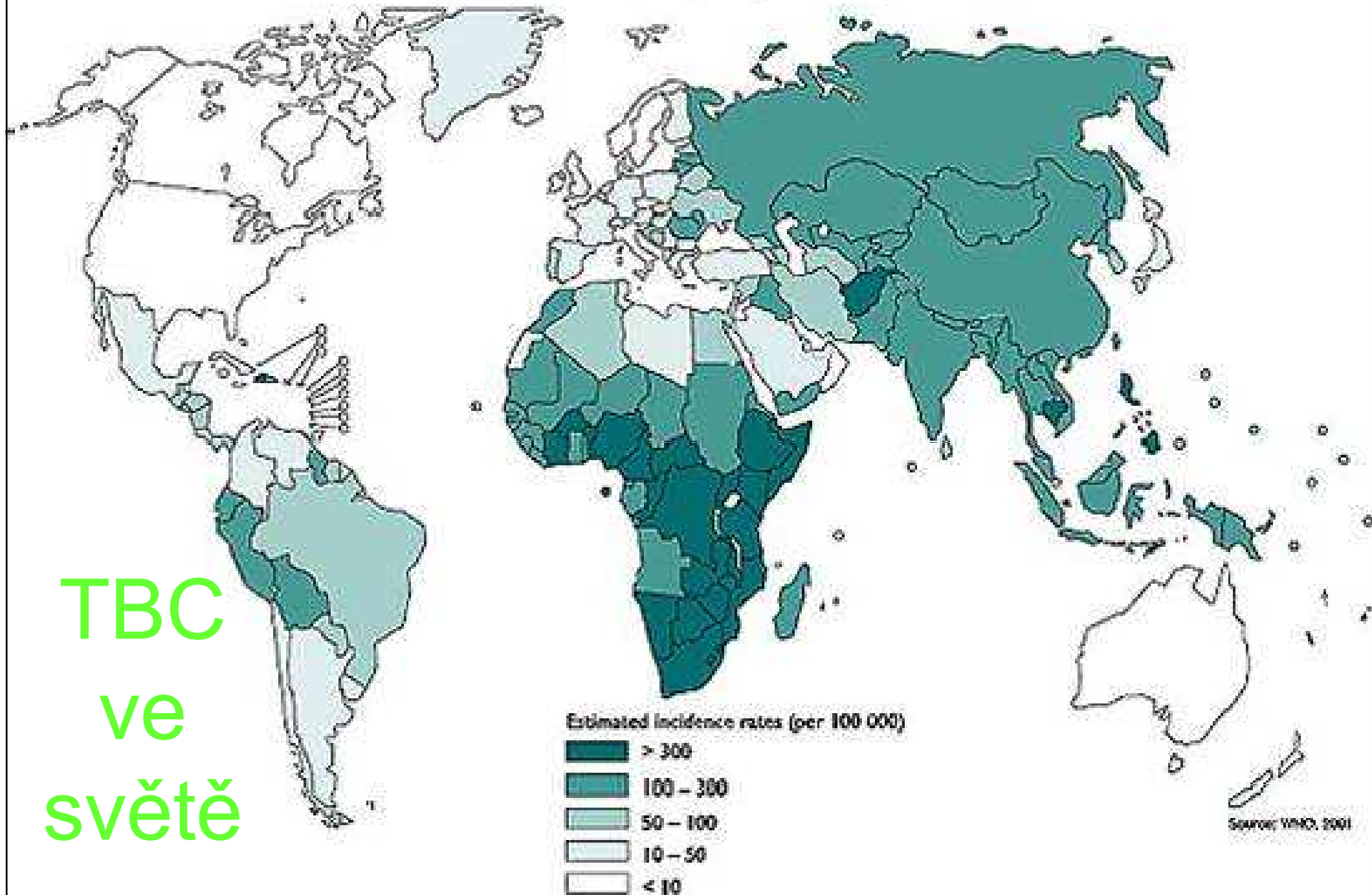
sitemaker.umich.edu (2x)



Tuberculosis Affects Many Parts of the Body



Tuberculosis, 2000



TBC
ve
světě

Ještě jednou TBC

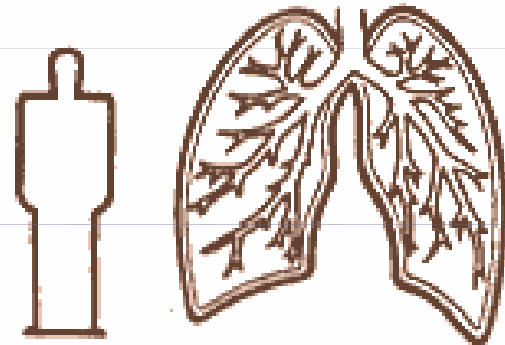
<http://www.lung.ca>

<http://www.cbc.ca>

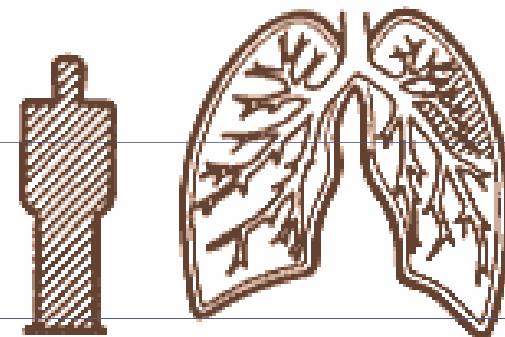


Dist WD Exp
SE 7.4 0
2 µm

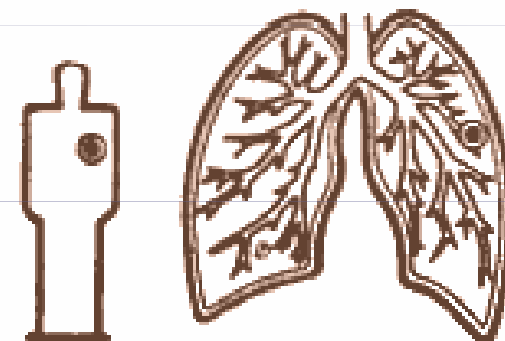
Tuberculosis Develops by Stages



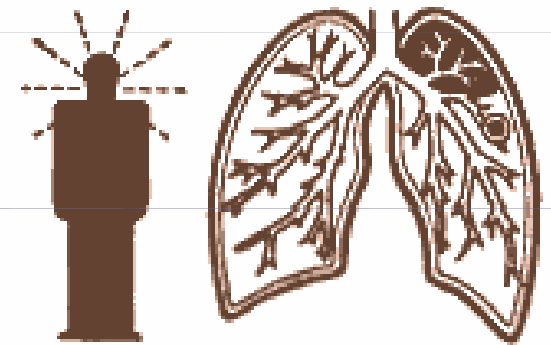
Every person is born with healthy lungs



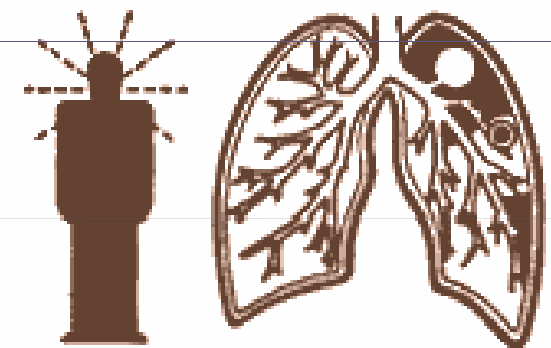
Many of us become infected from other people as we grow up.



The first infection usually heals. The person is well and no germs escape from his lungs. It is important to find this first infection in children.



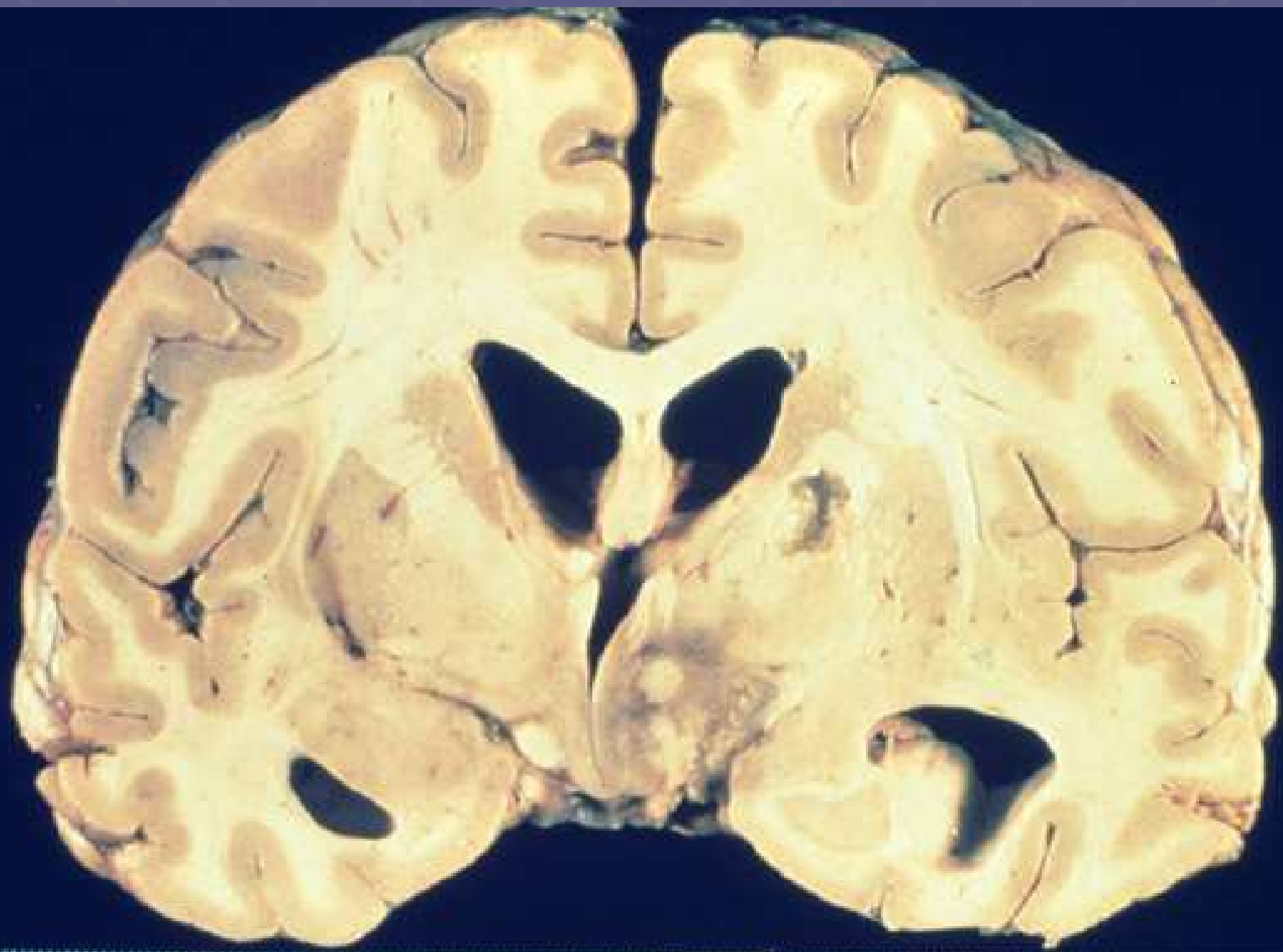
If later a person becomes infected again, the serious disease tuberculosis may begin. The germs that escape from the lungs are likely to infect others.



If tuberculosis is not discovered early, the disease spreads. A hole (cavity) may form in the lung which is an incubator of germs that escape and menace everybody who comes in contact with the sick person.

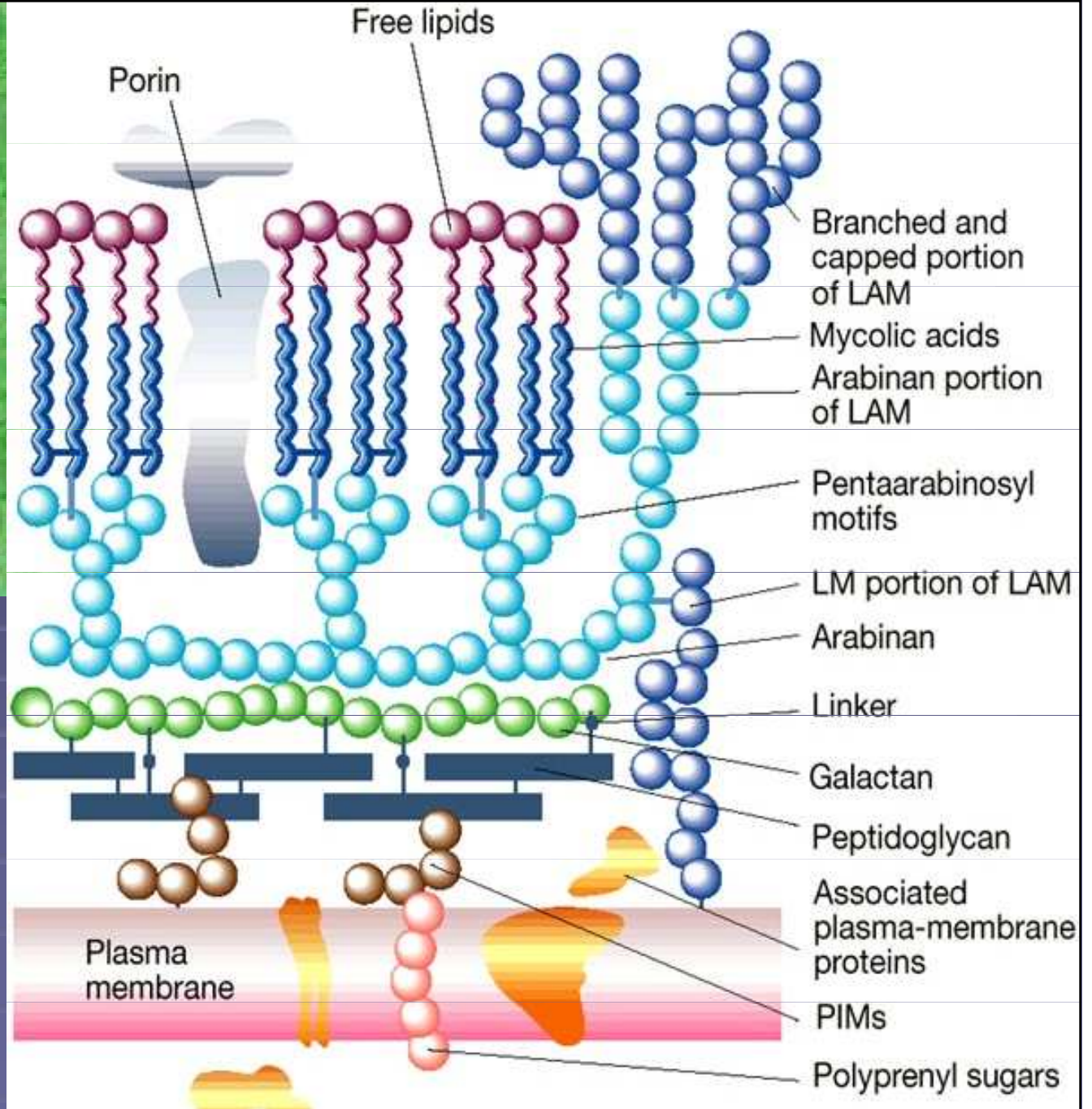
Tuberkulom mozku

<http://pathology.mc.duke.edu>



Další zvláštnosti mykobakterií

- Jejich buněčná stěna je vysoce hydrofobní, jsou v ní tzv. mykolové kyseliny. Téměř se nebarví podle Grama, jsou nutná speciální barvení.
- Roste pomalu, má dlouhou generační dobu, proto jsou pro kultivaci nutné speciální půdy
- Jsou velmi odolná k desinfekčním prostředkům. Nelze použít prostředky spektra „A“, proti běžným bakteriím, je nutné „T“ (proti TBC), případně „M“ (proti atypickým mykobakteriím)
- Jsou též odolná k antimikrobiálním látkám.



www.primer.ru

Buněčná stěna mykobakterií

<http://oregonstate.edu>

Zmínky o TBC ve známých písních...

...tuberkulóza, no to je paráda...

(Jaromír Nohavica: Pochod marodů)

Známí lidé, kteří zemřeli na TBC

Například: Václav II., Eliška Přemyslovna, Božena Němcová, Jiří Wolker, Karel Havlíček Borovský, Stanislav Rolínek (autor soch v Rudce u Kunštátu), Franz Kafka, George Orwell, Frederic Chopin, Anders Celsius (°C), Louis Braille (písmo), Gavrilo Princip (pachatel atentátu na následníka trůnu v Sarajevu), Beethovenova maminka, obr Drásal, sv. Terezie z Lisieux či svatý Kazimír

Příběh druhý

- Pan Hassan žil v pouštní části Súdánu, zmítané neustálými válkami a nepokoji.
- V poslední době se od něj začali odvracet i ti přátelé, kteří ještě neuprchli ani nebyli povražděni. Znetvoření obličeje pana Hassana bylo neklamnou známkou, že pan Hassan trpí onemocněním, které se v těchto zeměpisných šířkách ještě stále vyskytuje až příliš často.
- Naštěstí se pan Hassan setkal s pracovníky jedné nevládní organizace, kterým rovněž byla diagnóza jasná. Pomocí dapsonu se podařilo panu Hassanovi pomoci.

Viníkem je

- *Mycobacterium leprae*, mikrob ještě zvláštnější než tuberkulózní mykobakterium
- Jeho generační doba je ještě výrazně delší. In vitro kultivace se podařila teprve nedávno a trvala celý jeden rok
- Základní léčba lepry není drahá, bohužel v zemích, kde se lepra vyskytuje, je i tato poměrně nízká cena příliš vysoká
- Proto se problémem lepry zabývá řada nadací, nevládních a charitativních organizací a podobně.

Lepra

www2.bc.cc.ca.us (2x)



Příběh třetí

- Pan Piraňa byl zuřivým akvaristou. Poslední měsíc měl problém: musel do akvárií nořit jen levou rukou, protože na pravé měl vřed.
- Po vyšetřování byl jeho případ uzavřen jako tzv. **fish tank granuloma**, běžný u akvaristů. Podobná nemoc plavců se nazývá **swimming pool granuloma**.
- Původci jsou...

Atypická mykobakteria

- Kromě *M. tuberculosis* a *M. leprae* existuje i spousta dalších mykobakterií. Některá, např. *Mycobacterium marinum*, patří mezi tzv. atypická mykobakteria, která občas způsobují infekce ran a jiné problémy.
- Některá jiná mykobakteria jsou nepatogenní a jsou normální součástí lidské mikroflóry, např. *M. smegmatis* – viz obrázek



Infekce *M. marinum*

<http://www.nlm.nih.gov>



Příběh čtvrtý

- Paní Píšťelková si už delší dobu hmatala pod kůží krku drobné útvary
- Nedávno se stalo, že jeden z těchto útvarů se otevřel na povrch a v ústí se objevil velmi hustý, žlutý páchnoucí hnis. To už paní Píšťelkovou donutilo zajít k lékaři.
- Lékaři poslali hnis na mikrobiologické vyšetření. Vyšetření trvalo dlouho – paní Píšťelková už spílala mikrobiologům, že si tam někde válejí šunky. Nakonec se ukázalo, že...

...jde o aktinomykózu

- tedy že viníkem je *Actinomyces* sp.
- Aktinomycety jsou vláknité bakterie, v podstatě grampozitivní, ale barví se Gramem špatně, protože jejich buněčná stěna je hodně hydrofobní a obsahuje hodně mykolových kyselin
- Aktinomycety se běžně vyskytují v ústní dutině zdravých osob. Odtud se za různých okolností mohou dostat do měkkých tkání krku, tváře či hrudníku. Jsou to anaerobní bakterie

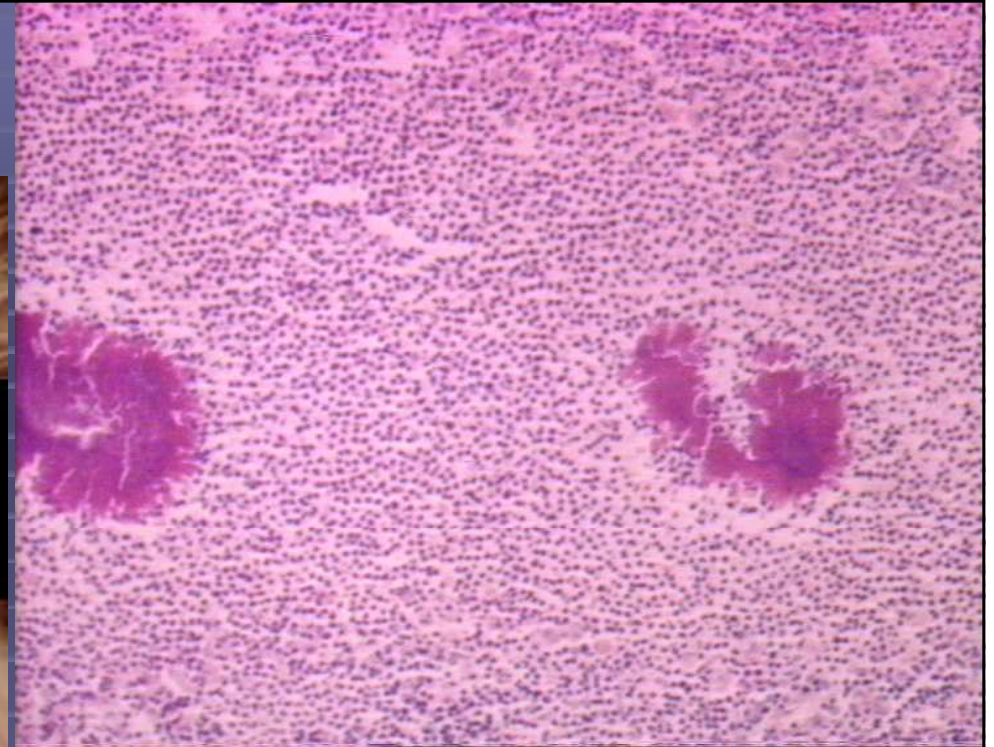


<http://en.wikipedia.org>

Nokardie

- Nokardie jsou podobné aktinomycetám. Na rozdíl od nich však jsou naopak striktně aerobní. Jinak však mají hodně podobné vlastnosti, s výjimkou přenosu. Aktinomykóza bývá endogenní, naopak nokardióza exogenní, často z půdy
- Existují ještě různé **další příbuzné či podobné bakterie**, např. rothie, dermatofily, rhodokoky a další. Původci lidských onemocnění se však stávají jen zřídka

Aktinomykóza



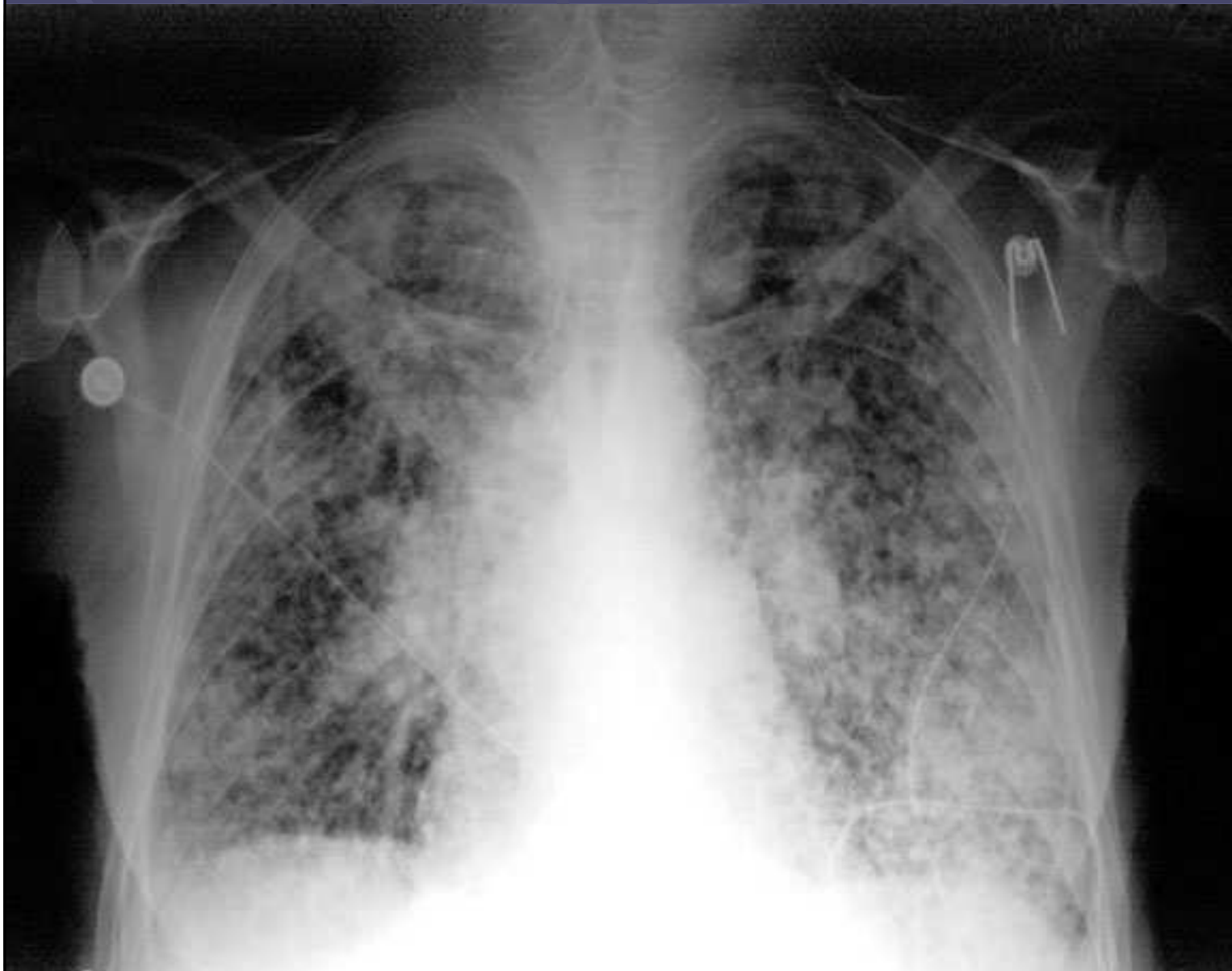
pathmicro.med.sc.edu (3x)



Nokardióza



Nokardiová pneumonie se sepsí



A previously well 57-year-old man ... 3-day history of severe dyspnoea. We conclude that *N. asteroides* infection can present as a fulminant community-acquired pneumonia with bacteraemia in the absence of immunosuppression or coexistent infection. (From the article related to the picture)

Nokardióza mozku na CT



Acidorezistence a alkalirezistence

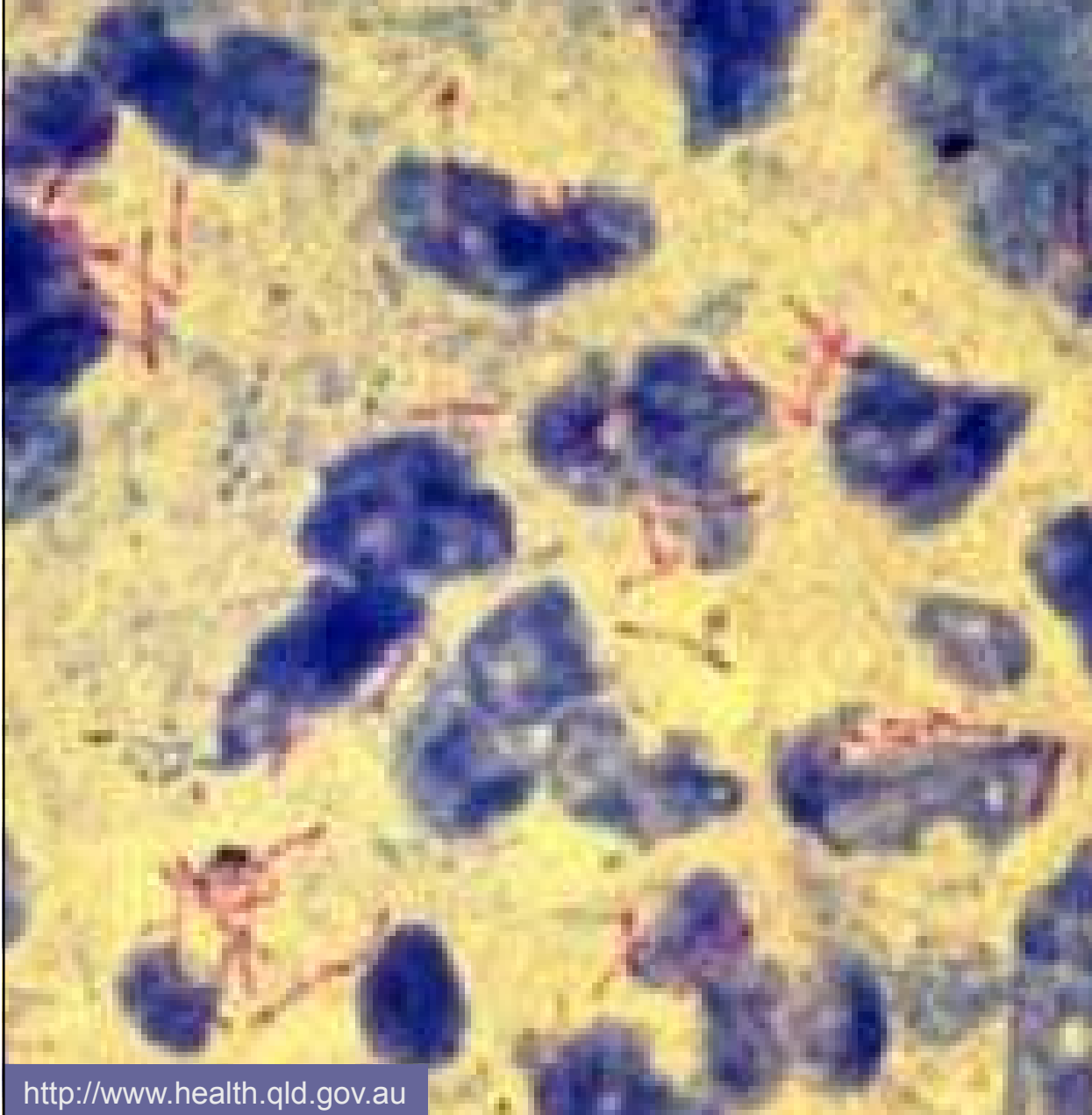
- Aby mohly na něco působit kyseliny či alkalie, musí to „něco“ být hydrofilní, tedy komunikovat s vodným prostředím. Pro mykobakteria však tohle neplatí.
- Nejsme tedy schopni je kyselinami či alkaliemi ničit
- Nejsme také schopni je kyselinami odbarvovat, pokud tedy se je nějakým zázrakem podařilo obarvit
- Totiž: většina barviv je také hydrofilních, a tudíž se mykobakteria i špatně barví, zpravidla je nutno barvit je za horka, aby se vůbec obarvila
- Nokardie a aktinomycety jsou na rozdíl od mykobakterií acidorezistentní jen zčásti. Barvíme je proto podle Grama, ale musíme počítat s tím, že se barví nerovnoměrně a špatně.

Co z toho vyplývá pro klinika?

- Pokud klinik pošle vzorek (sputum, moč, hnis či cokoli jiného) „na bakteriologickou kultivaci“, nemůže očekávat, že vyšetření odhalí případnou přítomnost mykobakterií
- Chce-li klinik zjistit, zda má pacient TBC, musí poslat vzorek zvlášť a na průvodce výrazně označit, že má být vyšetřen kultivačně či PCR na tuberkulózu. V tom případě laboratoř provede příslušné procedury
- Sérum na protilátky proti TBC také posílat nelze, (přesněji: lze, ale je to na kočku), protože protilátková odpověď je velmi špatná.

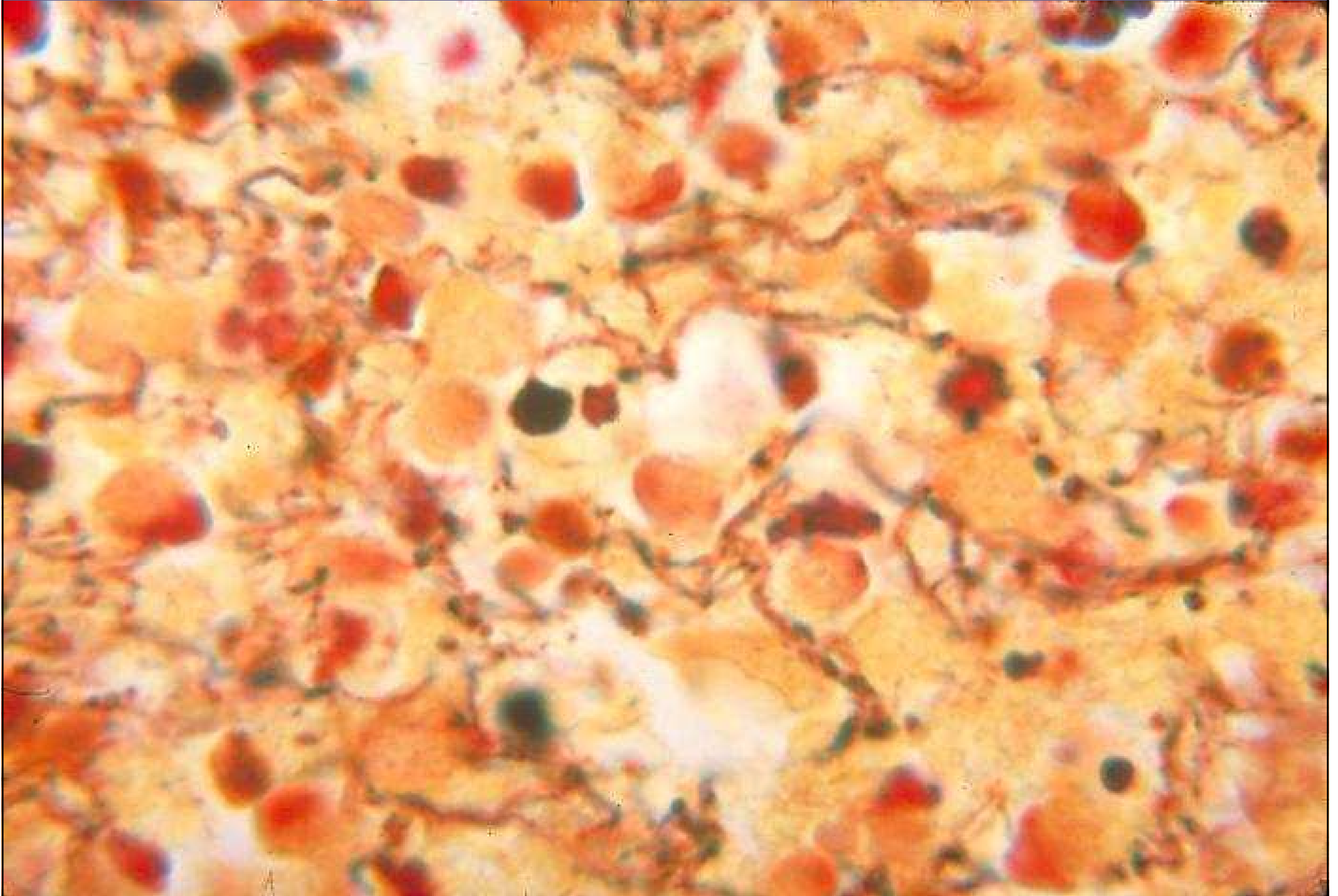
Acidorezistentní bakterie

Mycobacterium tuberculosis

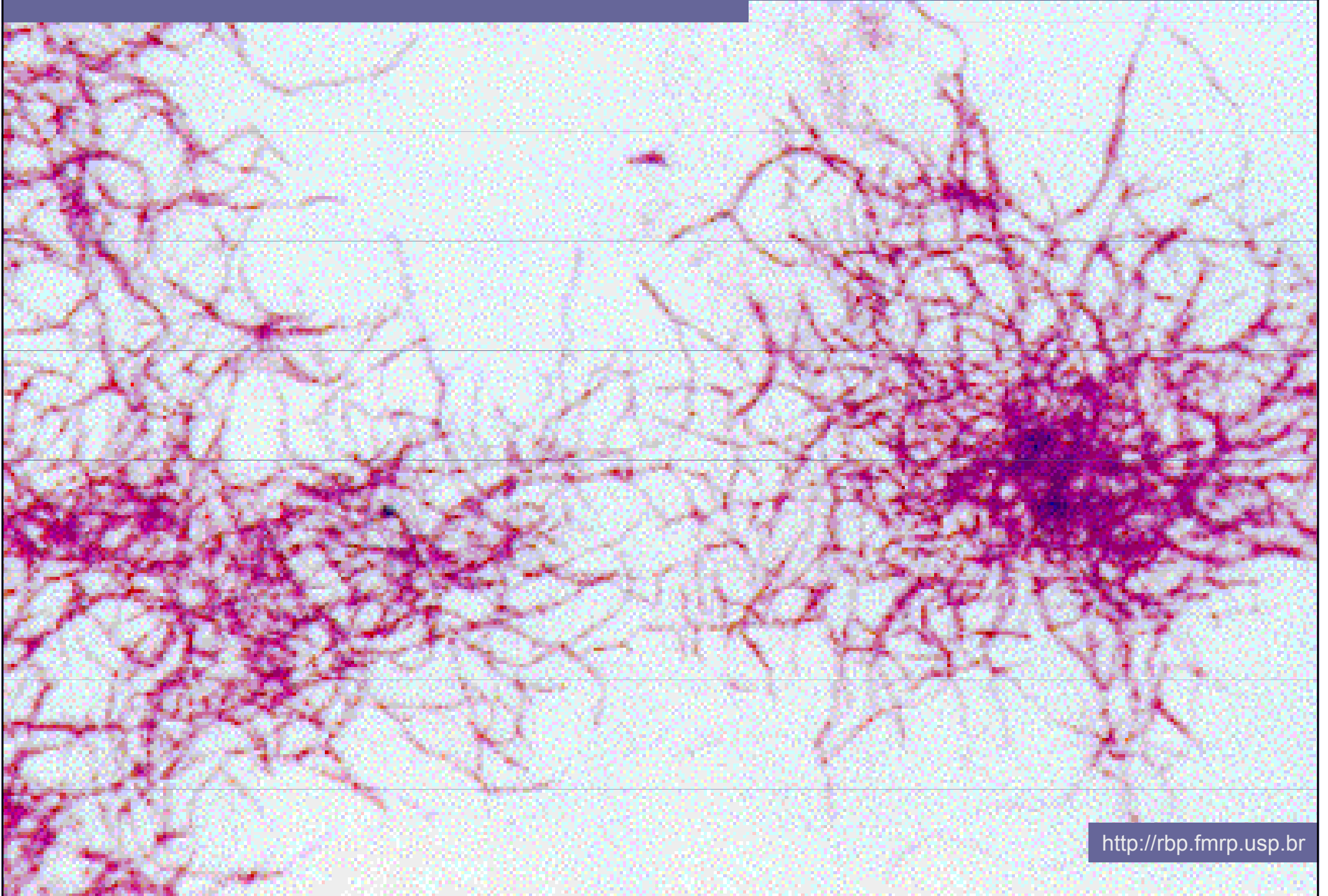


Actinomyces israeli

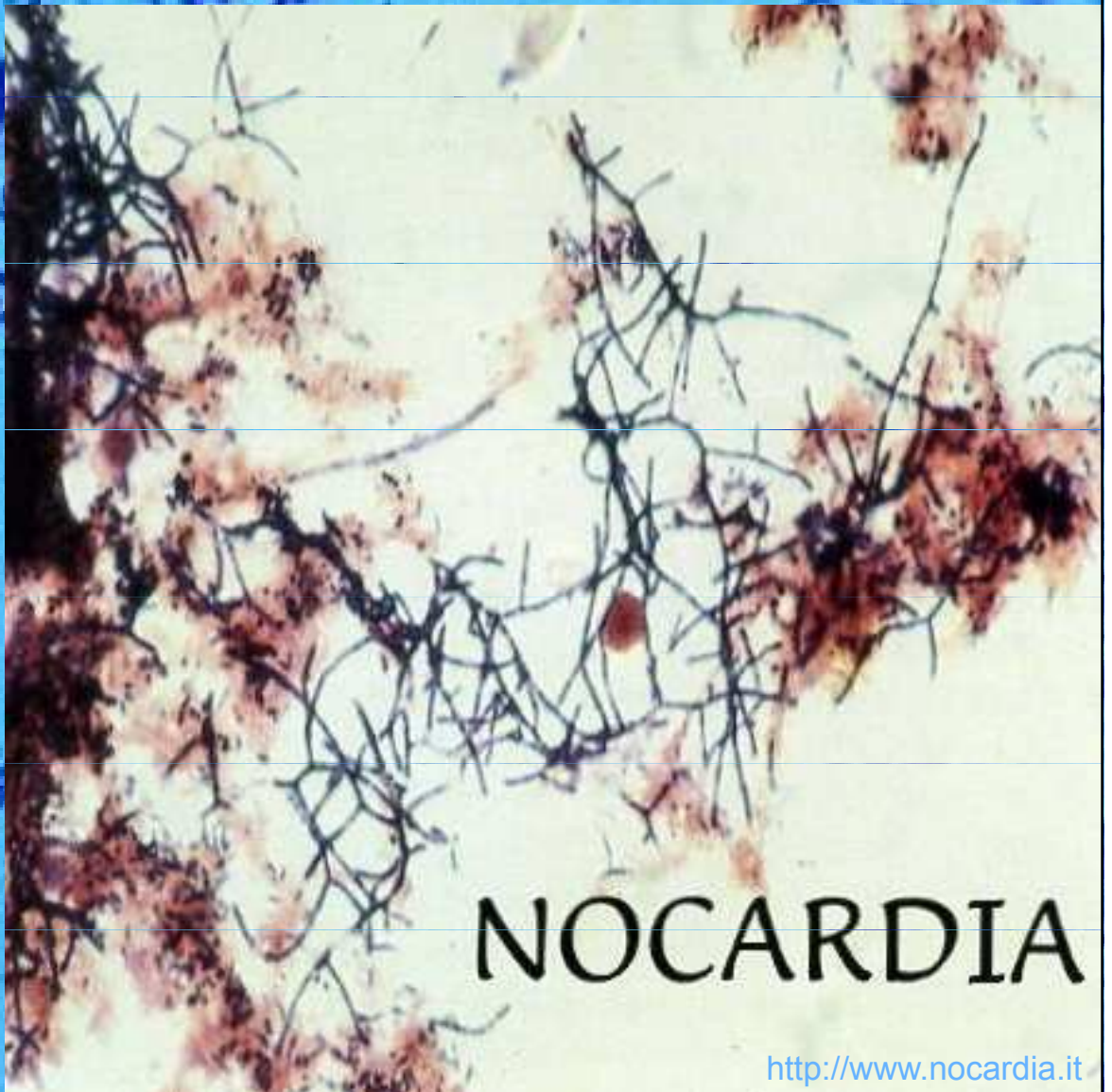
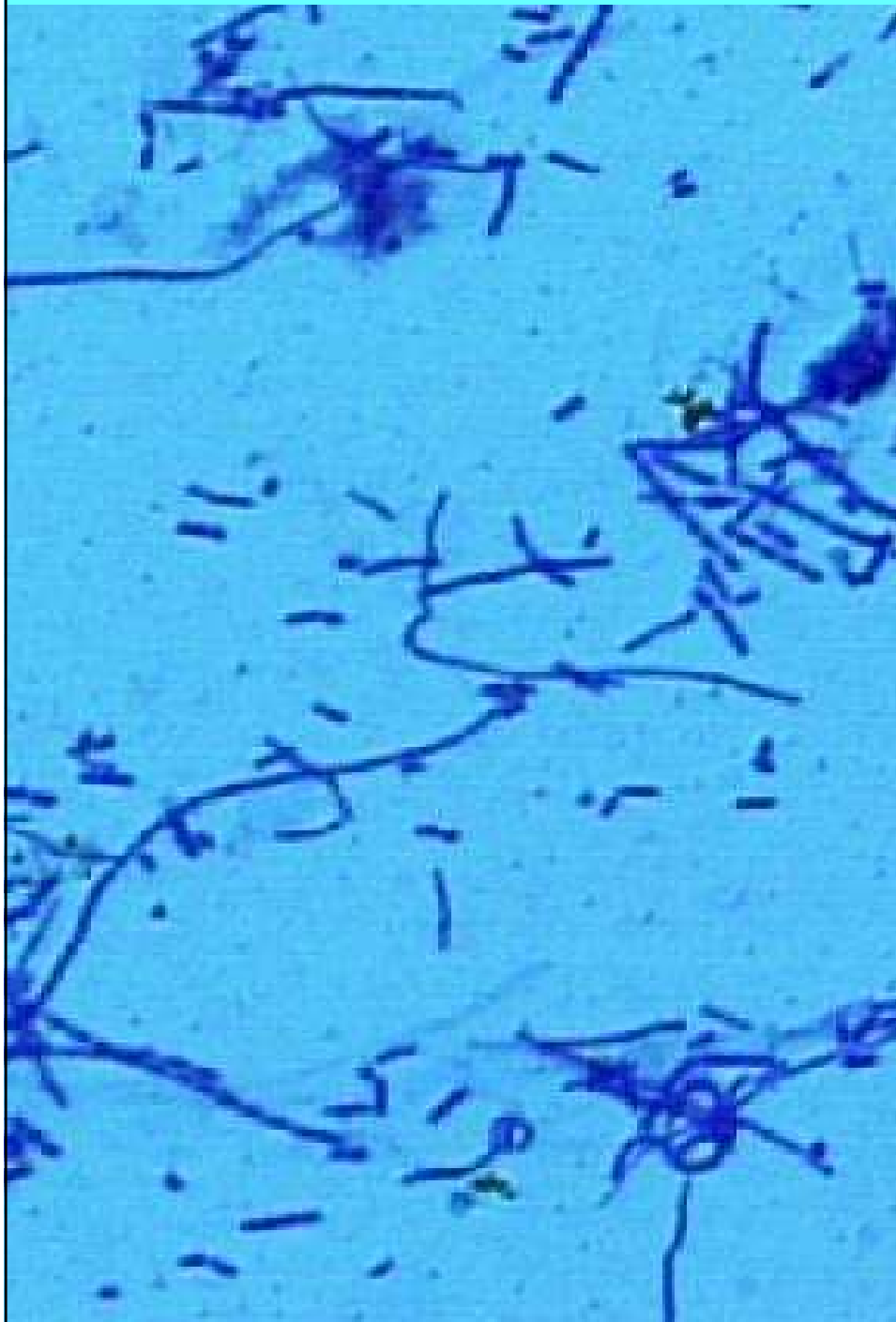
pathmicro.med.sc.edu



Nocardia asteroides



Nocardia asteroides



NOCARDIA

Jak pátrat po mykobakteriích

- Mikroskopie: Používá se Ziehl-Neelsenovo barvení a fluorescenční barvení
- Kultivace: Používá se speciálních půd, přičemž před vlastní kultivací předchází moření, obvykle louhem. Cílem moření je usmrtit ostatní bakterie, které by při svém rychlém růstu byly kultivačně úspěšnější. Alkalirezistentní mykobakteria moření snadno přežijí. Kultivační výsledky se zpravidla odečítají po 1, 3, 6 a 9 týdnech; první odečítání slouží hlavně k vyřazení kontaminovaných půd, mykobakteria vyrostou až za 3, častěji 6, občas i 9 týdnů.

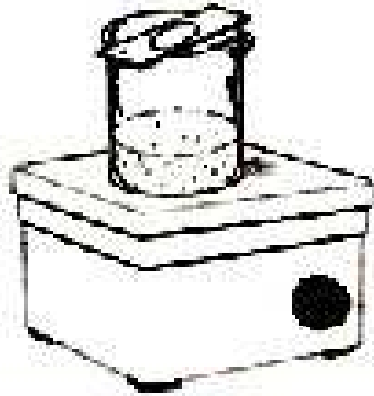
Jak pátrat po mykobakteriích II

- Automatická kultivace: Používá se různých typů kultivačních automatů: mohou detekovat kultivační pozitivitu mnohem dříve než klasická kultivace
- Biochemické rozlišení je možné, je však vyhrazeno specializovaným laboratořím
- Pokus na zvířeti: občas se používá morče
- PCR diagnostika se stává čím dál důležitější
- Nepřímý průkaz se naopak nepoužívá: vzhledem k převažující buněčné imunitě nemá vyšetřování protilátek praktický smysl

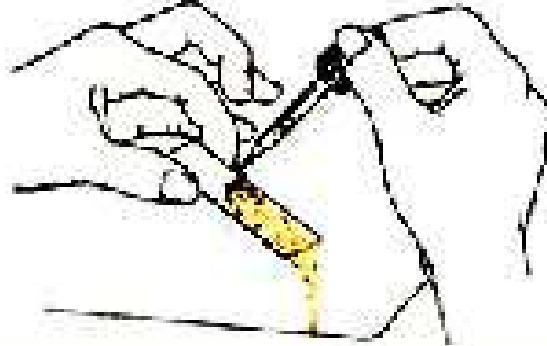
PCR kit pro diagnostiku TBC



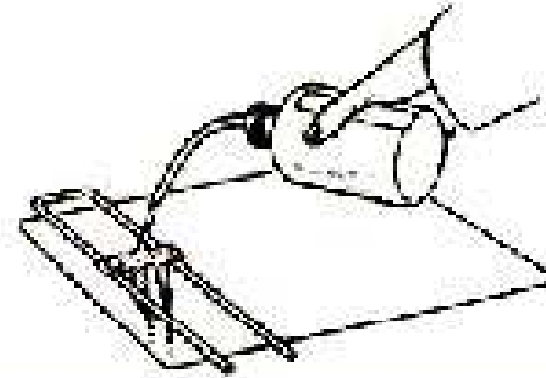
Ziehl-Neelsenovo barvení



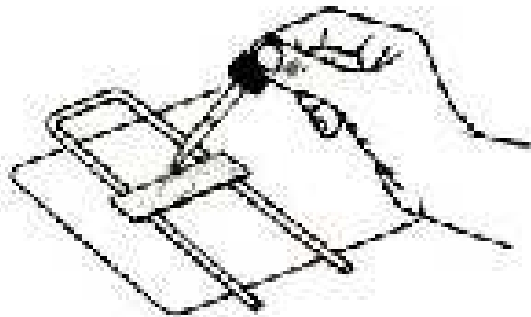
1 Cover smear with carbolfuchsin. Steam over boiling water for 8 minutes. Add additional stain if stain boils off.



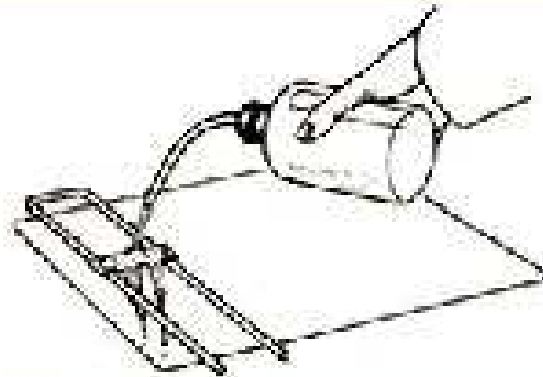
2 After slide has cooled decolorize with acid-alcohol for 15 to 20 seconds.



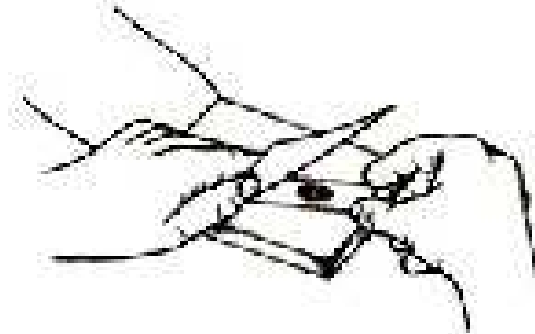
3 Stop decolorization action of acid-rinsing briefly with water.



4 Counterstain with methylene blue for 30 seconds.



5 Rinse briefly with water to remove excess methylene blue.

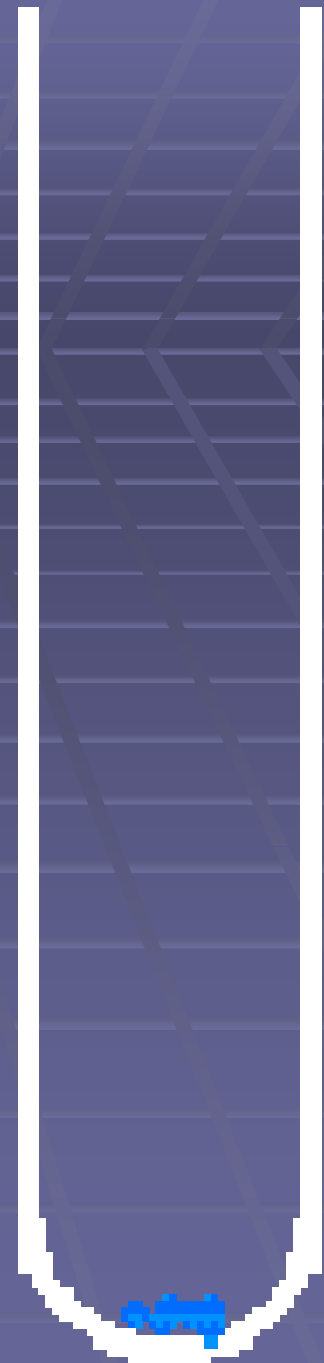


6 Blot dry with bibulous paper. Examine directly under oil immersion.

Ziehl-Neelsen acid-fast staining procedure

K tekuté Šulově půdě

- I pozitivní zkumavka je na první pohled čirá, protože nárůst mykobakterií je patrný jen u dna („modrej bordel“, jak to trefně označila studentka J. H. 😊)



Testy antituberkulotické citlivosti (nikoli antibiotické!)

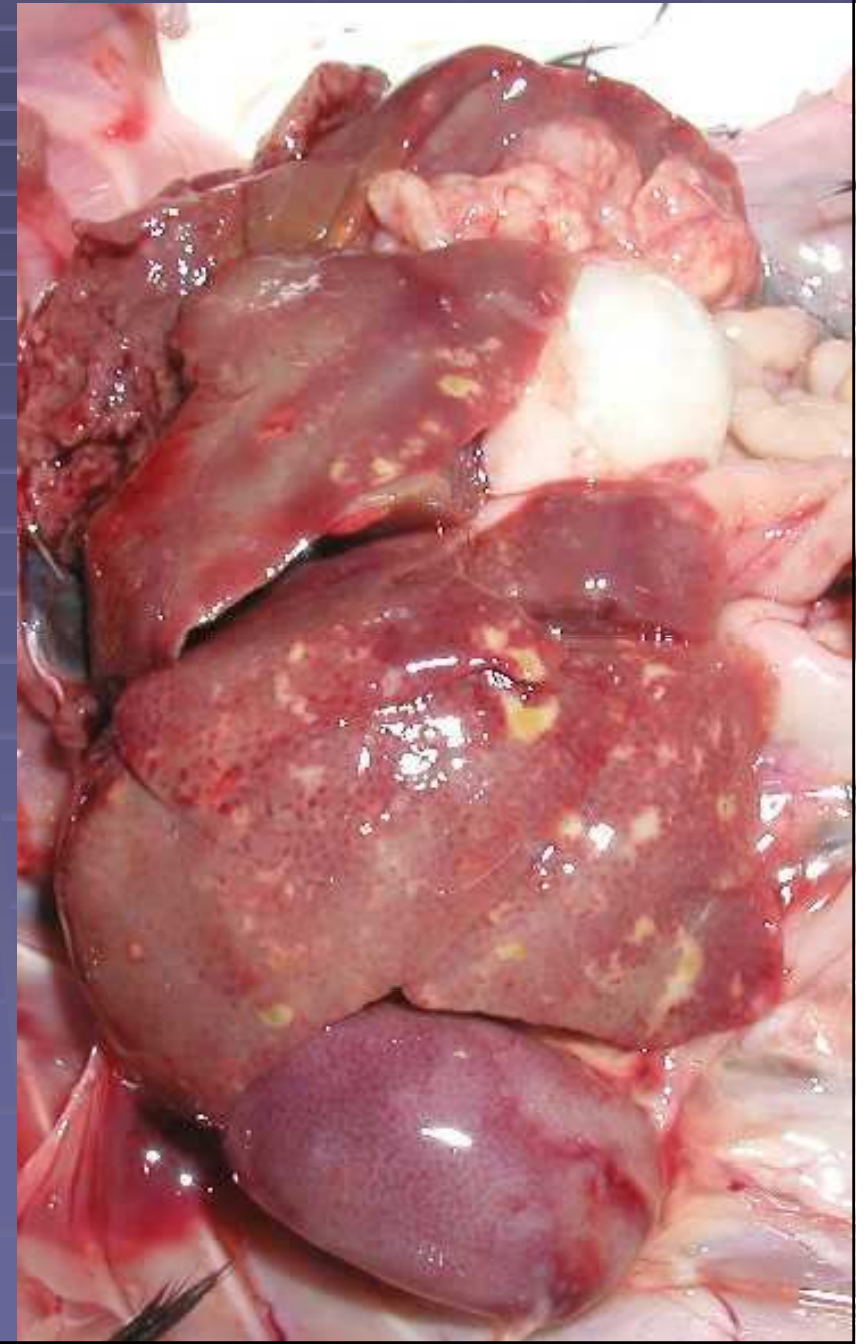
- Nelze používat difúzní diskové testy
- Antituberkulotika přidáváme přímo do kultivační půdy
- Antituberkulotika jsou zvláštní látky, až na výjimky odlišné od antibiotik
- Vždy se užívají kombinace tří či čtyř: rychle totiž vznikají rezistence, navíc některá působí jen intra- a jiná zase extracelulárně

Přehled běžně užívaných antituberkulotik

Foto L. Mezenský a J. Svobodová

Antibiotikum	Zkratka
Isoniazid	H, INH
Ethambutol	E
Rifampicin	R
Pyrazinamid	Z
Streptomycin	S, STM

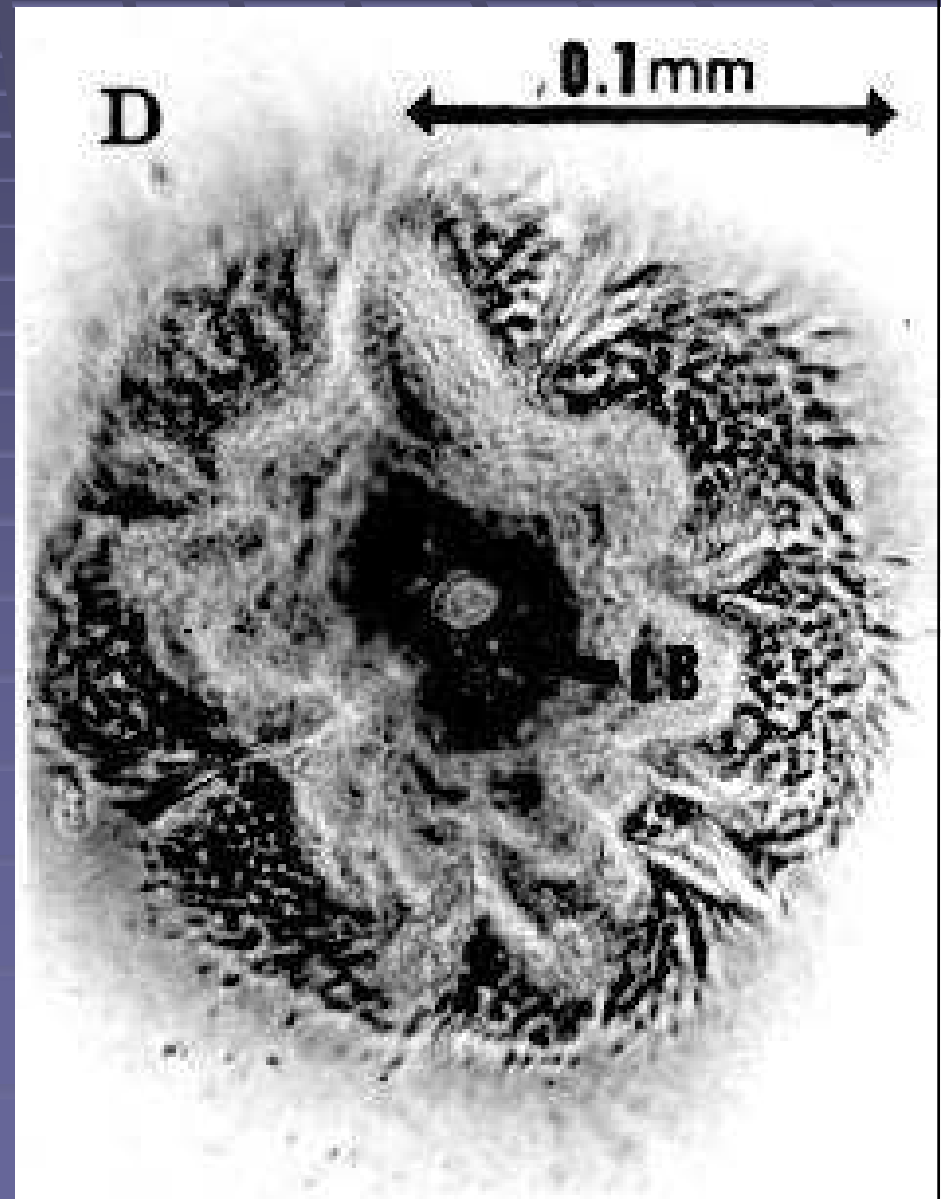
Tuberkulózní játra
pokusného morčete



Diagnostika nokardií a aktinomycet

<http://filebox.vt.edu>

- Jsou jen částečně acidorezistentní. Barví se i podle Grama, ale poměrně špatně. Jsou to grampozitivní až gramlabilní vlákna
- Nokardie jsou aerobní, aktinomycety anaerobní



Testy antibiotické citlivosti

- Antibiotická citlivost se na rozdíl od mykobakterií dá u nokardií a aktinomycet stanovit difusním diskovým testem.
- Musíme ale počítat s tím, že rostou pomalu a špatně.

Logo jednoho kongresu o TBC



Děkuji za pozornost