

# Mykobaktéria

Alena Ševčíková,  
OKM, FN Brno

# Mykobaktéria – společné vlastnosti

- **Morfologické** – nelze je obarvit dle Grama, acidorezistence, nepohyblivé, nesporulující, aerobní tyčinky
- **Kultivační** – pomalý růst na speciálních půdách
- **Patogenní** – chronické infekce, intracelulární, kde podstatnou roli hraje reakce makroorganismu a buněčná imunita
- **Terapeutické** – citlivost na jiný typ antimikrobiálních látek

# Rod *Mycobacterium*

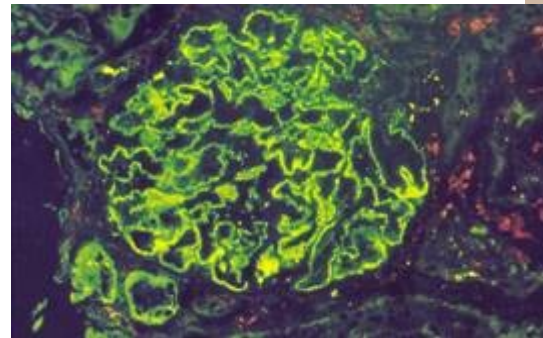
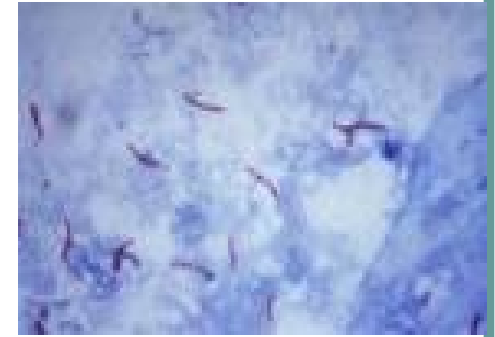
- Obligátně patogenní druhy
  - Původce tuberkulózy *M. tuberculosis*
  - Původce lepry *M. leprae*
- Podmíněně patogenní druhy
  - **Mykobakteriózy** původcem může být více jak 50 druhů mykobaktérií z celkového počtu 100 dosud popsáných druhů, vyskytujících se v prostředí (slaná i sladká voda, vodovodní potrubí, studně, akvaria, hlína, prach), nebo u u zvířat, ryb, ptáků

# Acidorezistence

- Barvení dle Ziehla-Neelsena
  - Karbolfuchsin za horka, nebo s fenolem
  - Kyselý alkohol (s HCL)
  - Dobarvení methylenovou modří nebo malachitovou zelení
  - červené tyčinky

- Fluorescenční barvení auraminem

- materiál
- z kultivační půdy tzv. cording



# Rychlost růstu mykobaktérií

- **Pomalu rostoucí druhy**
  - generační doba 18 – 30 hod, na půdách rostou (2) 3 – 6 týdnů (9)
- **Rychle rostoucí druhy**
  - na půdách vyrostou do 1 týdne
- **Nerostoucí in vitro**
  - *M. leprae*



# Tzv. atypická mykobaktéria

- Ve vodě a v půdě se vyskytují desítky různých mykobaktérií, žijících jako saprofyty
- Více jak 50 druhů může příležitostně vyvolat onemocnění u člověka – **mykobakteriózy**

# Mykobakteriomy

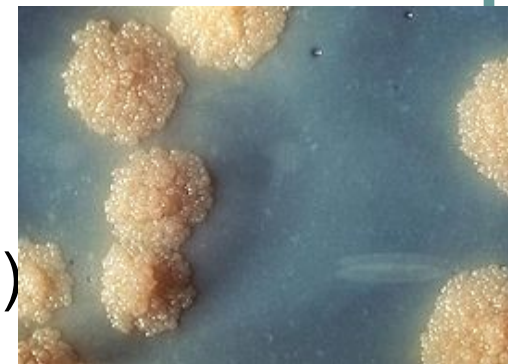
- Pŕenos cestou inhalační, kontaktem
- Granulomatomy zánětlivé onemocnění, postihující pŕevážně plíce
- Predisponující faktory: TBC, plicní fibróza, cystická fibróza, bronchiektazie, silikóza, CHOPN, HIV, geneticky podmíněná vnímavost
- Pŕíznaky: expektorace, purulentní sputum, hemoptýza, hubnutí, febrilie, pocení, únava
- *M. avium*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*
- rezistence na řadu antituberkulotik

# Pomalu rostoucí (3 – 6 týdnů)

nonchromogenní

- **Komplex *M. tuberculosis*:**

- *M. tuberculosis* (tuberkulóza)
- *M. africanum* (tbc v tropické Africe)



- *M. bovis* (tbc krčních uzlin) skot, prasata, přenos mlékem, po roce 1968 ojedinělý výskyt
  - *M. bovis BCG* - bacil Calmettův-Guérinův - vakcinační kmen), 231 pasáží na bramborové půdě s glycerinem a žlučí během 13 let – oslabená virulence



# Pomalou rostoucí (3 – 6 týdnů)

nonchromogenní

- **Komplex *M. avium***

- *M. avium* ssp. *avium* (pneumonie a lymfadenitidy)
- *M. intracellulare* (pneumonie a lymfadenitidy)
  - běžnými testy neodlišitelné, stejná patogenita
  - rezistence na většinu antituberkulotik
  - patogenní pro ptáky, včetně drůbeže a pro prasata
  - závažná disseminovaná onemocnění v souvislosti s AIDS
- *M. avium* ssp. *paratuberculosis* – podezření z vyvolání Crohnovy choroby

# Pomalu rostoucí (6 – 8 týdnů)

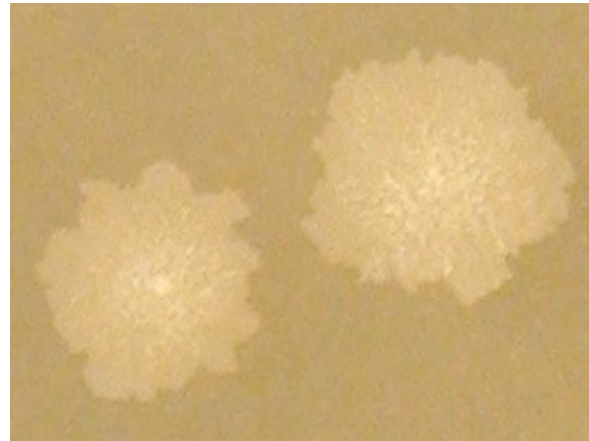
nonchromogenní

- **Mycobacterium ulcerans** – Burulský vřed
  - Třetí nejčastější mykobakteriόza
  - Vlhké tropické oblasti
  - Manifestace: nodulární útvar měnící se v rozsáhlé kožní oblasti



# Pomalu rostoucí (3 – 6 týdnů)

- **Fotochromogenní** (pigmentace kolonií na světle)
  - **M. kansasii** (důlní a hutní průmysl, chronická onemocnění plic napodobující tbc)
  - **M. marinum** (z bazénů, akvárií, kožní granulómy,



# Pomalou rostoucí (3 – 6 týdnů)

- **Skotochromogenní**  
(rostou v barevných koloniích i potmě)
  - **M. xenopi** z  
vodovodních systémů,  
plicní infekce, ale bývá  
i u zdravých osob)
  - **M. gordonae**  
(většinou  
kontaminanty)



# Rychle rostoucí mykobaktéria

## 48 hodin do 1 týdne

- *M. fortuitum*
- *M. chelonae*
  - podkožní abscesy, osteomyelitidy po nesterilně podaných injekcích
  - kontaminanty
- *M. abscessus*
  - chronické infekce plic a ran



# Identifikace

- **Mikroskopie**

- Ziehl – Neelsen  
(100 polí při 1000 násobném zvětšení)
- Fluorescenční barvení auraminem  
(25 – 50 zorných polí při 160 – 400 násobném zvětšení)
  - Citlivost  $10^5$  mikrobů/ $1\text{mm}^3$

# Identifikace

- **Kultivace** - dvojnásobně citlivější
  - Odstraněním doprovodné flóry dekontaminací 4% NaOH dojde ke ztrátě životaschopnosti 90% mykobaktérií
    - Tuhé půdy (Lowenstein – Jensen, Ogawa)
    - Tekuté půdy (Šulova)
  - Hodnotí se
    - Rychlost kultivace
    - Velikost, vzhled kolonií a pigmentace kolonií
    - Produkce enzymů

# Identifikace

- **Rychlé kultivační metody** v automatickém přístroji Bactec MGIT detekce za 10 – 14 dní
- **Molekulárně biologické metody**
  - Identifikace přímo v materiálu
  - Identifikace z narostlé kultury
- **Pokus na zvířeti** – obsolentní metoda

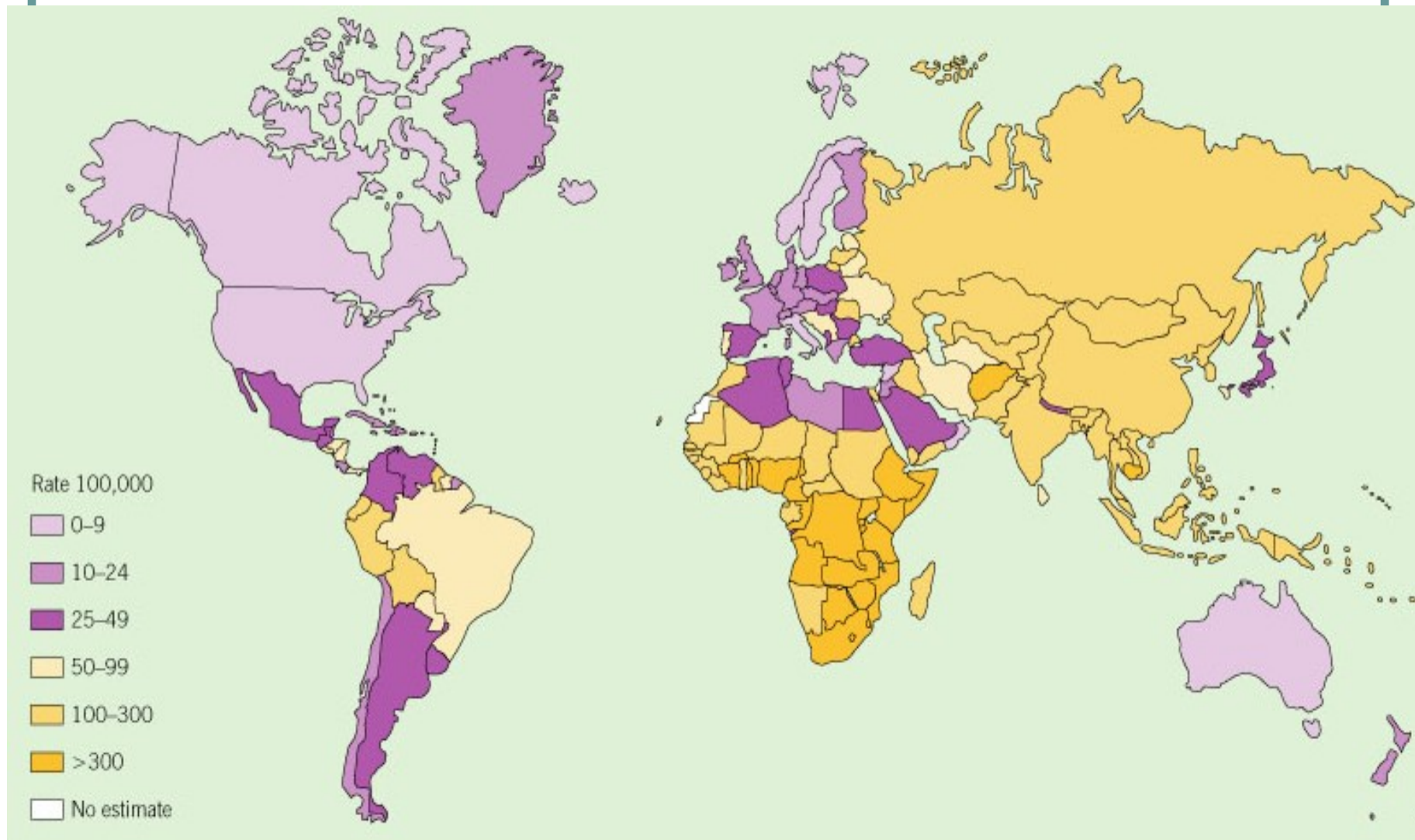


# *Mycobacterium tuberculosis*

- Pouze lidský patogen, člověk je jediný zdroj nákazy
- Dle WHO - 1/3 světové populace je infikována (2 miliardy)
- 20 miliónů má aktivní tuberkulózu
- 8 mil osob se nakazí ročně
- 3 mil osob ročně na TBC umírá

# Incidence TBC v roce 2000

Václav Chmelík, JČU



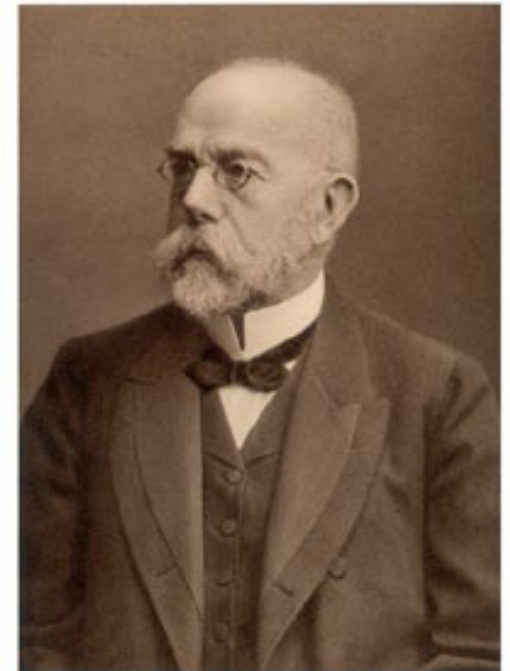
# Tuberkulóza

- Provází lidskou populaci odpradávná
  - Egyptské mumie 4000 – 2000 let př.Kr.
  - Indiáni v předkolumbovské éře
- K rozšíření a prudkému zvýšení incidence došlo během průmyslové revoluce v 17. – 19. století
  - Koncentrace obyvatel
  - Sociální podmínky

Původce:

## *Mycobacterium tuberculosis*

- Objevil v roce 1882 Robert Koch
  - označení bacil Kochův - BK
- V roce 1905 získal Nobelovu cenu za výzkum tuberkulózy



# *Mycobacterium tuberculosis*

- Faktory patogenity
  - Toxický glykolipid – CORD faktor, složka buněčné stěny
  - schopnost přežít uvnitř makrofágů neimunního jedince
- mykobaktéria jsou přepravována makrofágy do oblastních mízních uzlin a z nich do krve a dalších orgánů
- za poškození je odpovědná reakce makroorganismu, probíhající jako typická reakce pozdní přecitlivělosti na mykobakteriální Ag

# Vstupní brána infekce

- plicní alveoly
- vzácně zažívací trakt – lymfadenitida krčních uzlin
- výjimečně kůže



# Patogeneze

- Primoinfekce – **primární komplex**
  - Úplné vyhojení
  - Klidové stádium
- **Reaktivace nebo reinfekce**

# Primární komplex

- mykobakteria pohlčena makrofágy
- množení v makrofázích
- migrace do oblastních uzlin
- aktivace buněčné imunity
- granulóm s nekrotickým středem sýrového vzhledu - kaseifikace
- primární ložisko a odpovídající lymfatická uzlina = primární komplex



# Primární komplex

- ložisko se postupně opouzdří, posléze se hojí, ohraničuje vazivem a kalcifikuje
- část mykobaktérií může zůstat naživu a proces může kdykoliv progredovat a šířit se
  - Plicní forma
  - Mimoplicní formy - meningy, klouby, kosti, ledviny, kůži
- mnohočetné drobné granulómy – miliární rozsev

# Postprimární tuberkulóza

- Ložisko se může reaktivovat i po desetiletích, nebo může dojít k exogenní reinfekci
- Reaktivace při snížení imunity – ve stáří, při abusu drog, alkoholu, při HIV
- Vzniká rozsáhlý granulóm, který kolikvuje a může se vyprázdnit do bronchu
- V dutině se dobře množí mykobakterie (otevřená tuberkulóza), hemoptýza, teploty

# Laboratorní průkaz

- Mikroskopie
- Kultivace
- Molekulárně biologické metody
  
- Standard: sputum zasílané 3 dny za sebou
- BAL, hnis, likvor, biopsie, moč

# Nebezpečí profesionální nákazy

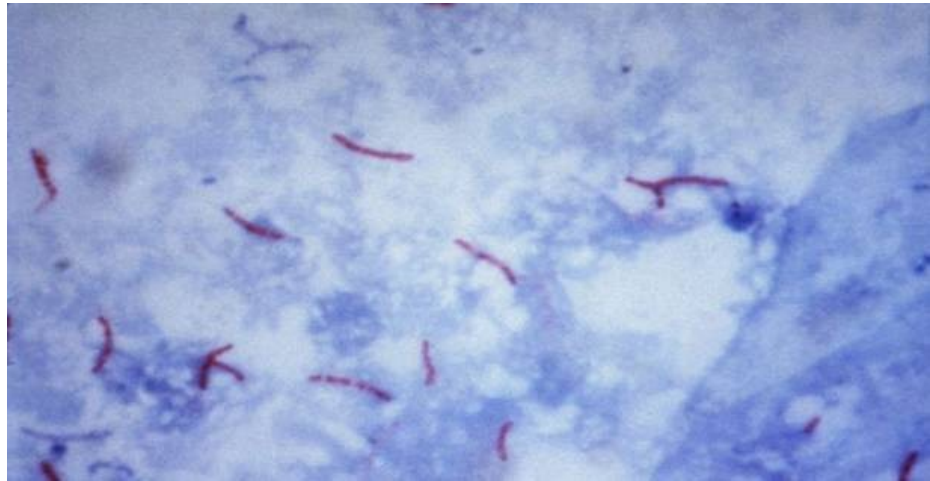
- Infekční dávka je méně než 10 bacilů
- Jakékoliv sputum zaslané i na běžné bakteriologické vyšetření může obsahovat mykobaktéria
- Nutnost zpracovávat materiál v laminárním boxu, vyvarovat se vzniku infekčního aerosolu



# Mikroskopie

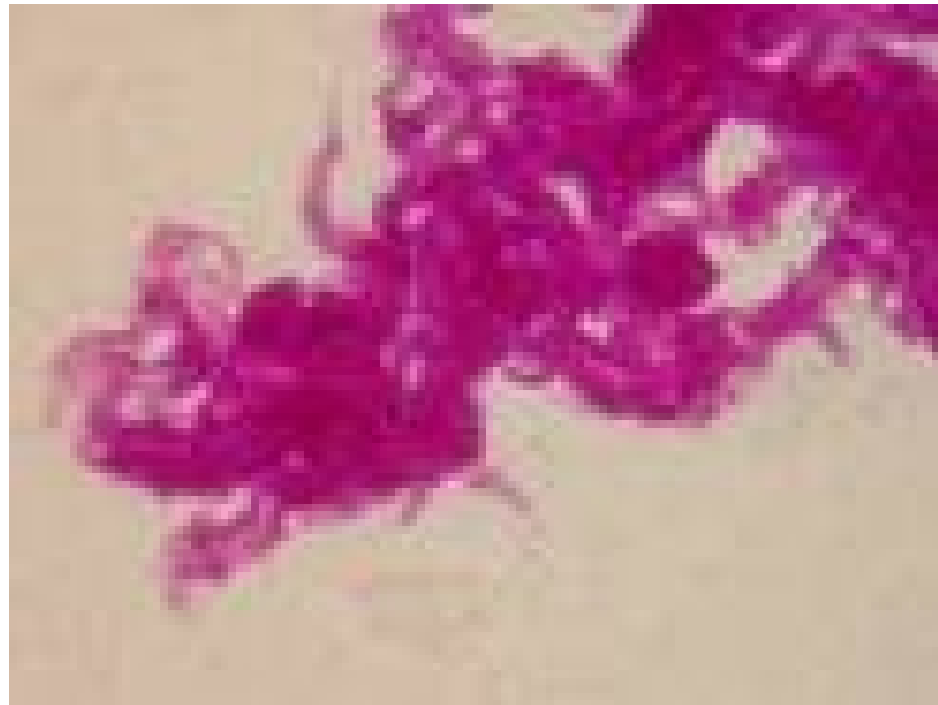
*pro vysoký obsah lipidů a vosků ve stěně mykobaktérií nelze použít Gramovo barvení*

- velmi štíhlé acidorezistentní tyčinky, někdy lehce zahnuté, či granulované, vzácně větvcí se formy
- průkaz přímo v materiálu: sputum, likvor apod.
- citlivost mikroskopie je asi 100krát nižší než kultivace



# *Mycobacterium tuberculosis*

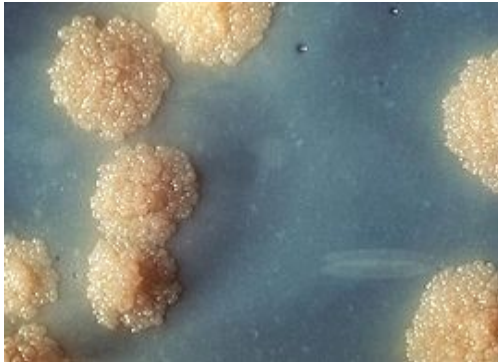
- v preparátu z kultury jsou vidět hadovité útvary připomínající spletené provazce tzv. cording



# Kultivace *M. tuberculosis*

*nejprve moření louhem sodným, poté neutralizace HCl*

- Půda Lowenstein – Jensenova – za 3 – 6 týdnů lehce nažloutlé, drsné květákovité kolonie
- V tekutých půdách tvoří blanku nebo bílý krupicovitý sediment



# Kultivace *M. tuberculosis*

- Poloautomatický systém Bactec MGIT zaznamenávají nárůst za 10 – 14 dní
- průkaz metabolitů, tvorby CO<sub>2</sub>





# Identifikace

- charakteristický růst
- biochemické testy
- molekulárně biologické metody
  
- testování citlivosti na antituberkulótika

# Pokus na zvířeti – dnes obsolentní

- Obtížně získatelný materiál: likvor, hnis, excidované uzliny,
- materiál, kde se předpokládá málo bacilů
- výrazně kontaminovaný materiál: moč, stolice
- morče, pod kůží na vnitřní straně stehna
  - po 6 týdnech pitva, mikroskopie, kultivace, histologie

# Rychlý průkaz

- molekulárně biologické metody, PCR
  - Přímě z materiálu
  - Identifikace z kultury
    - rizika: falešné pozitivita i negativita
    - detekce živých i mrtvých mykobaktérií

# Tuberkulinový test (Mantoux)

- Proteinový komplex z filtrátu mykobakteriální kultury
- Kožní testování buněčné hypersenzitivity opožděného typu
  - Pozitivní je u infikovaných nebo vakcinovaných osob
  - Po intradermální aplikaci dochází v místě vpichu ke vzniku zánětlivého infiltrátu

# Terapie

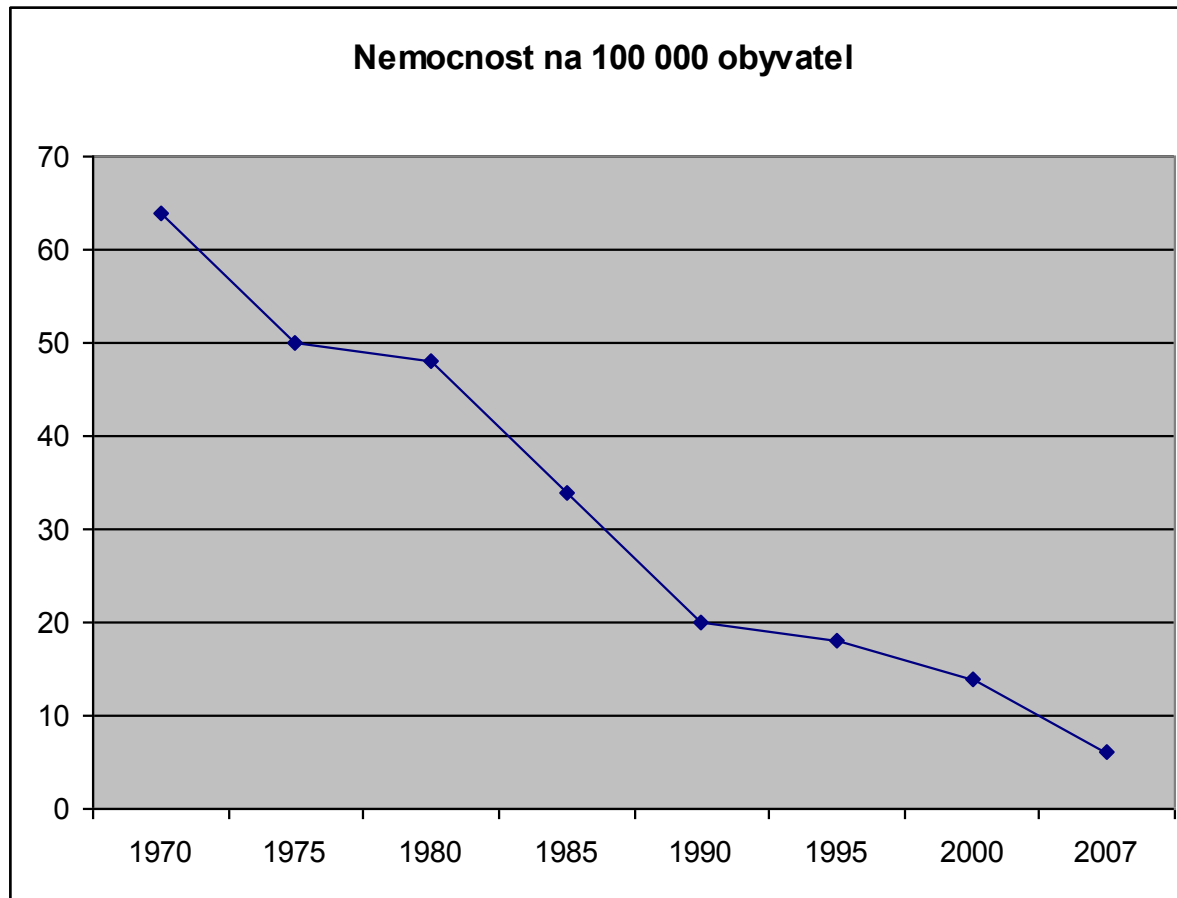
- První fáze 2 měsíce čtyřkombinace léků
- Poté 6 – 8 měsíců dvojkombinace léků
  - Každá populace obsahuje primárně rezistentní mutanty  $1:10^5$  –  $1:10^8$
- Základní antituberkulotika
  - isoniazid (INH), rifampicin (RMP), pyrazinamid (PZA), ethambutol (EMB), streptomycin (STM)
- Druhá řada
  - FQ, makrolidy, AMG, rifabutin, capreomycin, clofazimin)

# Epidemiologie

- zdrojem je člověk s otevřenou tuberkulózou
- přenos vdechnutím infekčního aerosolu
- Incidence v roce 2000 byla 14,0 /100 000 obyvatel
- Incidence je 10krát vyšší u bezdomovců, drogově závislých, osob nápravném zařízení, u žadatelů o azyl

# Nemocnost v ČR

## TBC



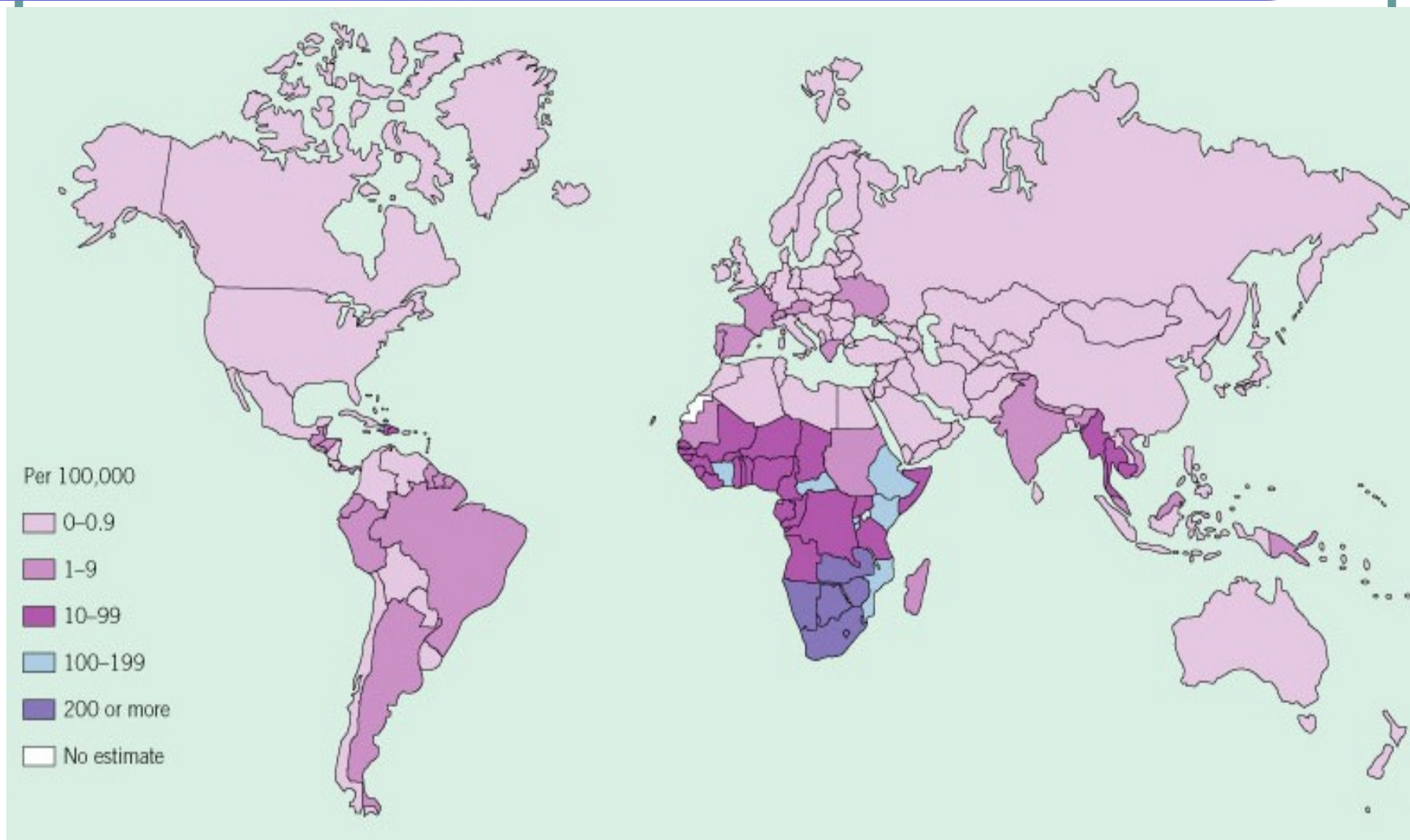
# Epidemiologie

- Z celkového počtu nemocných s tuberkulózou v roce 2007 bylo 18% cizinců
- Slovensko, Ukrajina, Vietnam, Mongolsko
- Multirezistentní TBC – její výskyt je v posledních 10 letech stabilizovaný, jedná se o cca 2,5% nemocných ročně



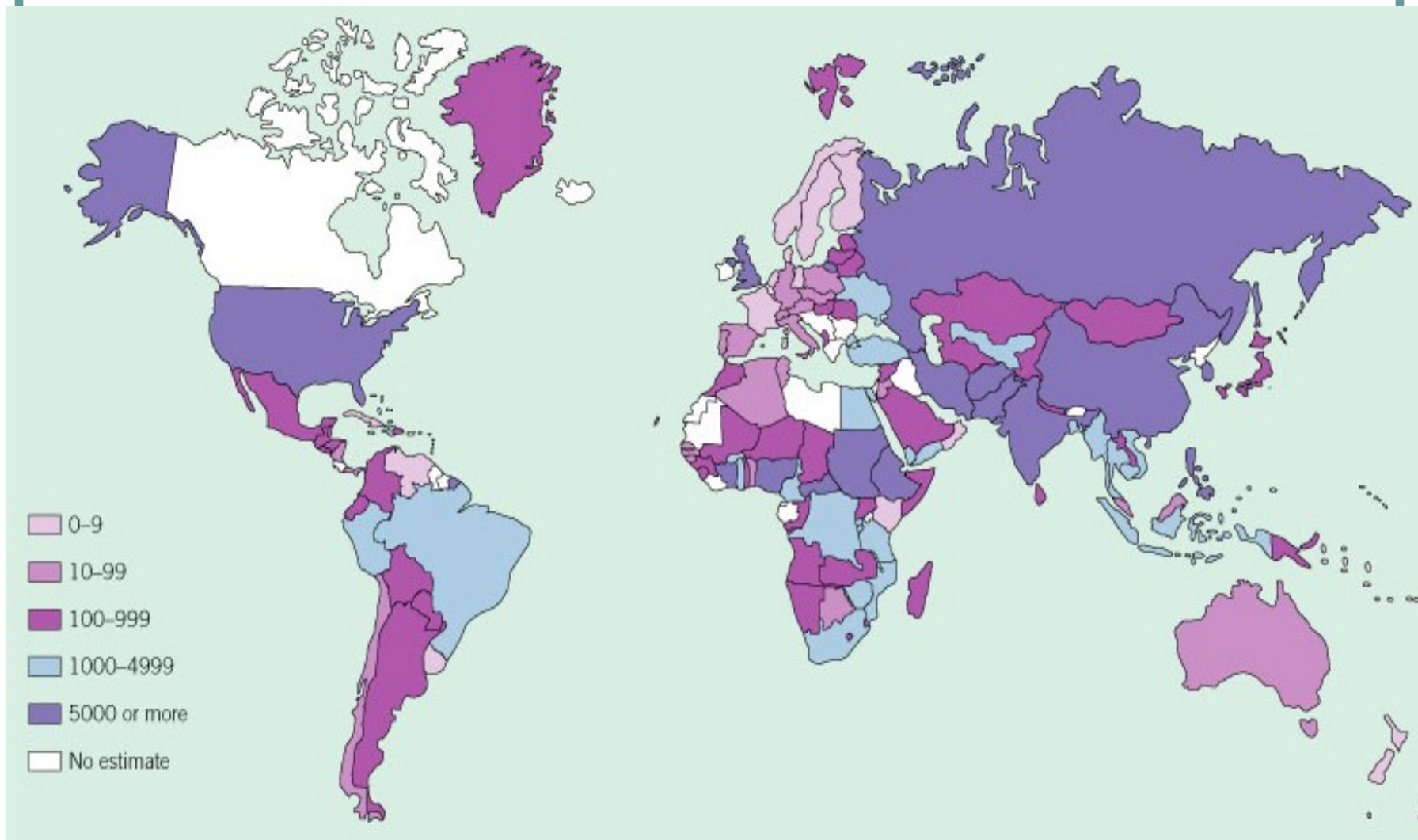
# Koinfekce HIV a TBC

Václav Chmelík, JČU



# Multirezistentní mykobakteria

Václav Chmelík, JČU



# Prevence

- Aktivní vyhledávání a léčba otevřené tuberkulózy v ohrožených skupinách obyvatelstva
- Plošná vakcinace do roku 2010
  - Novorozenci - BCG vakcína
    - Účinnost 40 – 80%
    - Chrání hlavně před miliární TBC
    - Vytváří se arteficiální primární komplex s vyhojením do 6 – 8 týdnů

# Prevence

- Cílená vakcinace
  - Děti rodičů, kteří pobývali v zemích s vysokým výskytem TBC nebo byli v dlouhodobém kontaktu s nemocným
  - Děti z rodin, kde se vyskytuje onemocnění

# *Mycobacterium leprae*

- Známo od starověku
- Původce objevil norský lékař Hansen v roce 1873
  - Hansenův bacil
- Dosud se jej nepodařilo vypěstovat in vitro

# *Mycobacterium leprae*

- V pokuse se množí v amerických pásovcích



- v tzv. nahých myškách s defektní imunitou a do jisté míry na tlapce a na ouškách myši normálních
- generační doba je extrémně dlouhá 12 – 14 dnů
- optimální teplota 30°C

# *Mycobacterium leprae*

- Má výraznou afinitu ke kůži, nervům a svalům
- Je netoxické, v 1g tkáně mohou být miliardy bakterií, nejčastěji intracelulárně
- Předpokládá se přítomnost ve volné přírodě

# *Mycobacterium leprae*

- Lidská onemocnění probíhají nejčastěji
  - Subklinicky
  - Klinické projevy jen u malého procenta
- Dlouhodobý a přímý kontakt s infekční formou onemocnění, během kterého dochází ke snížení buněčné imunity
- Brána vstupu – respirační trakt nebo kůže
  - **Tuberkuloidní forma**
  - **Lepromatózní forma**



# Tuberkuloidní forma



- Inkubační doba 2 – 3 roky
- Drobné depigmentace kůže , ohraničená skvrna, makula, tuberkuloid
- Nervy jsou zničeny zánětlivou reakcí
- Sklon ke spontánnímu vyhojení
- V ložisku málo bakterií, nakažlivost minimální



- **Není-li buněčná imunita dostatečná, infekce se generalizuje**
- **mykobaktéria se množí v chladnějším tkáních: v kůži, v podkoží na obličeji, v nosních chrupavkách, v kostech prstů**
- **V jakém stupni se buněčná imunita rozvine, je podmíněno geneticky**

# Lepromatózní forma

- Mnohočetná ložiska splývají, mění se ve vředy s velkým obsahem mykobaktérií, vznikají deformace
- Vředy jsou i na nosní sliznici, v DÚ, postiženy jsou i vnitřní orgány
- Jedná se o maligní formu vysoce nakažlivou



# Epidemiologie

- Celkový počet nemocných se odhaduje na 11 mil
- Největší počet
  - Střední Afrika
  - Indie, Nepál
  - Brazílie

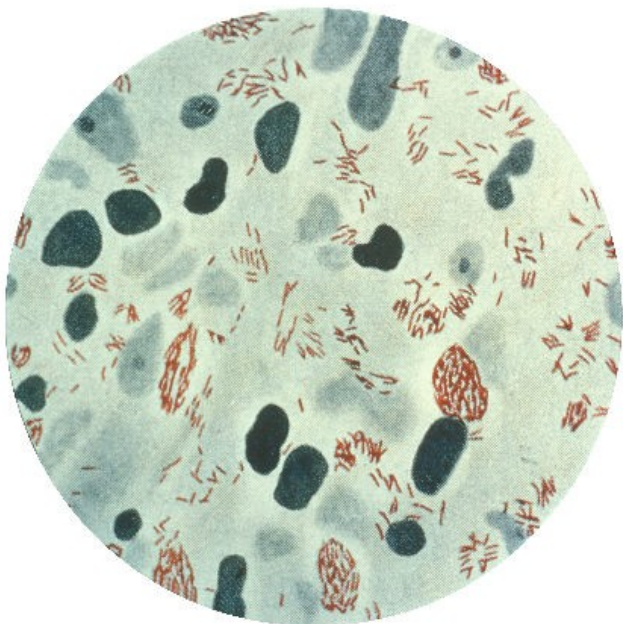


# Epidemiologie

- **Nejnakažlivější forma**
  - Neléčení nemocní s lepromatózní formou
  - velké množství bakterií je vylučováno v nosním sekretu
- **Subklinická forma**
  - Test blastické transformace lymfocytů

# Laboratorní průkaz

- Mikroskopie



- Leprominový kožní test (Mitsudova reakce)
  - Je měřítkem stavu imunity u lepromatózní formy

# Terapie

- Tuberkuloidní forma
  - Dapson a Rifampicin podobu 6 měsíců
- Lepromatózní forma
  - Trojkombinace léků 2 roky i více
    - Dapson, Clofazamid nebo Ethionamid, Rifampicin

# Prevence

- Aktivní imunizace se rutinně neprovádí
- Zjištěno, že BCG vakcína chrání 20% očkovaných proti nákaze malomocnostvím
- Zkouší se kombinovaná vakcína
- Hodnocení nejdříve po 10 letech



Děkuji za pozornost

