

Mikrobiologický ústav uvádí

# NA STOPĚ PACHATELE



Díl sedmý:

Anaerobní pachatelé

# 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 poore...

*(Zpívá se jako  
normální Mikulecké  
pole od Fanoša  
Mikuleckého)*

S takým klostridiem

Nedobře kočkovat

Nechaj sa, synečku zavčas  
pořádně přeočkovat...



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

# Přehled témat

Patogeny s komplikovanou diagnostikou

Klostridia – klinická charakteristika

Nesporulující anaeroby a laktobacily – charakteristika

Vztah bakterií ke kyslíku (opakování z jarního semestru)

Diagnostika anaerobů a získávání anaerobiózy

*Bonusový materiál: povídání o očkování*

Patogeny  
s komplikovanou  
diagnostikou

# Ještě než začneme...

- ...měli bychom si cosi uvědomit. Doted' (P01 až P06) jsme si povídali o převážně (s výjimkou např. *Neisseria gonorrhoeae*, brucel či legionel) bakteriích, na které není třeba nijak zvlášť myslet.
- Klinik prostě pošle vzorek „na kultivaci“, a ono z něj „něco vyroste“.
- **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**
- To si pamatujte hlavně pro budoucí praxi.

Zkoušku třeba nějak uděláte – ale *tohle* byste si měli umět uvědomit třeba i za dvacet let.

# Klostridia – klinická charakteristika

# Příběh první

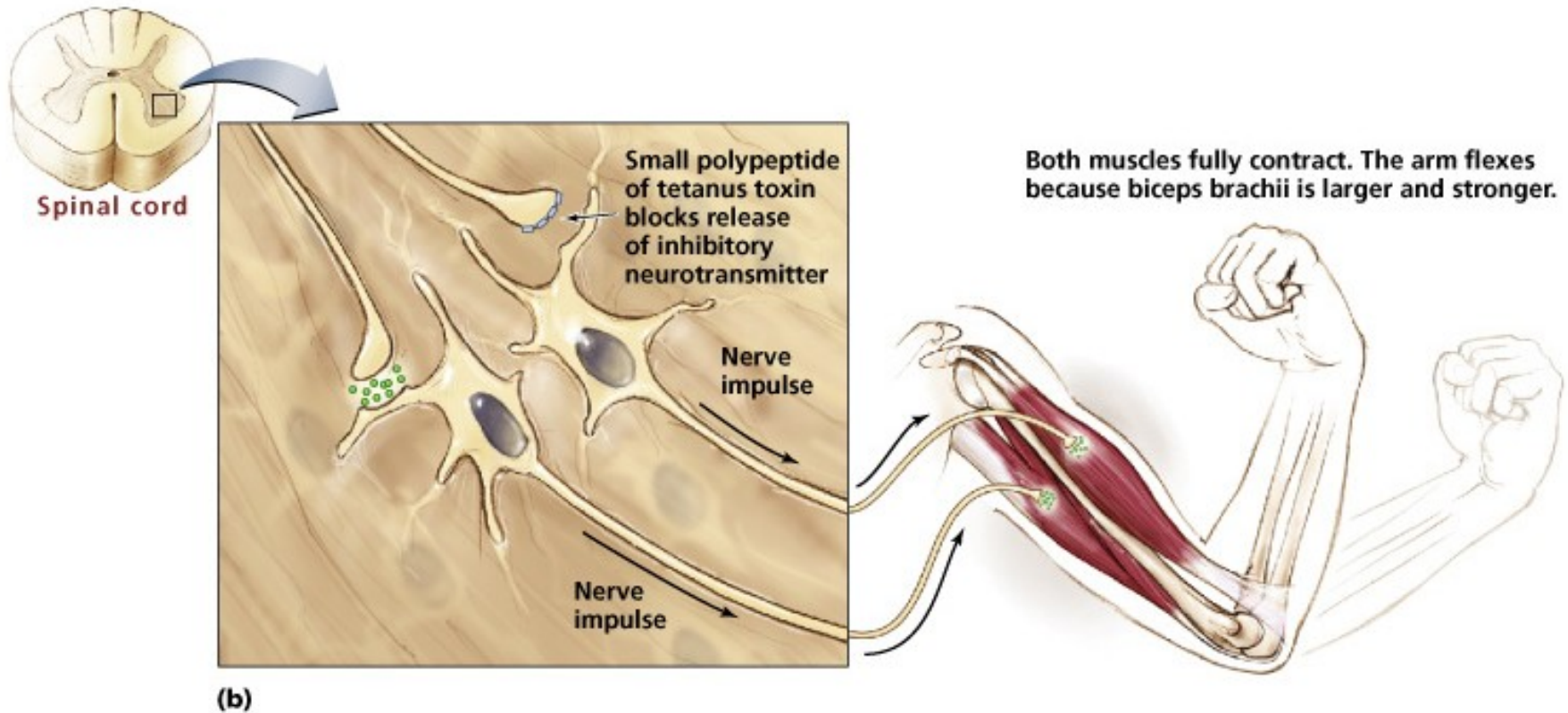
- Paní Kapustová byla celé dny k vidění v zahradě. Byl to její velký koníček. Jednou se **zranila** na ruce, kvůli **špičatému zbytku nějaké rostliny, ukrytému v půdě**. Šla ke svému obvodnímu lékaři.
- Obvodní lékař lokálně ošetřil ránu, a pak jí doporučil **přeočkování** proti jisté vážné chorobě 
- 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](http://www2.bc.cc.ca.us)



# Tetanický muž



# Ještě jednou tetanus

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

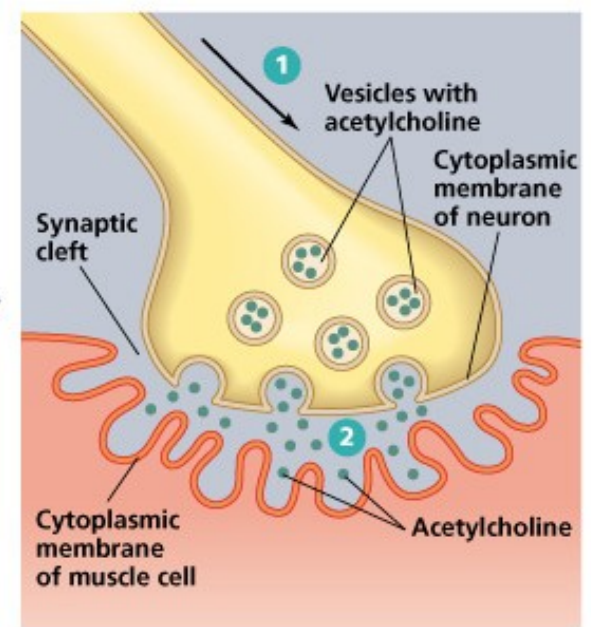
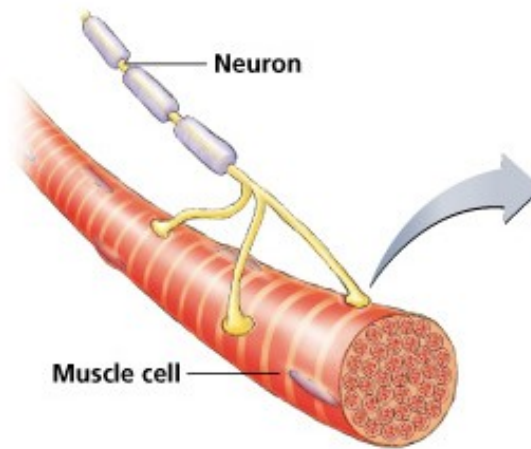


# Trismus (křeč čelistních svalů)

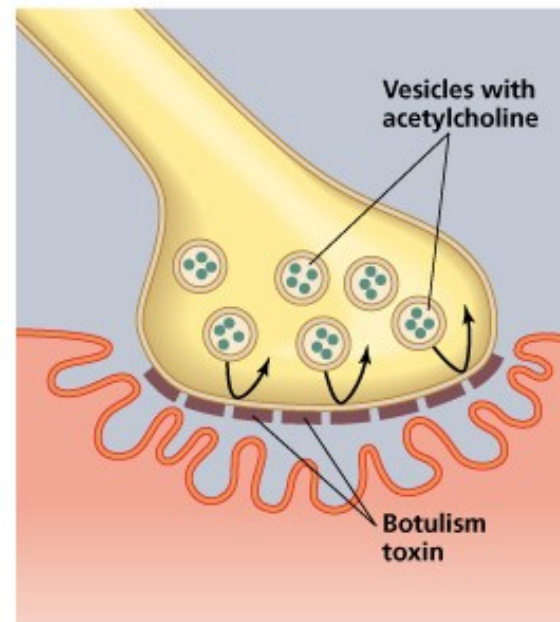
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



# Botulismus



(a) Normal neuromuscular junction



(b) Neuromuscular junction with botulism toxin present

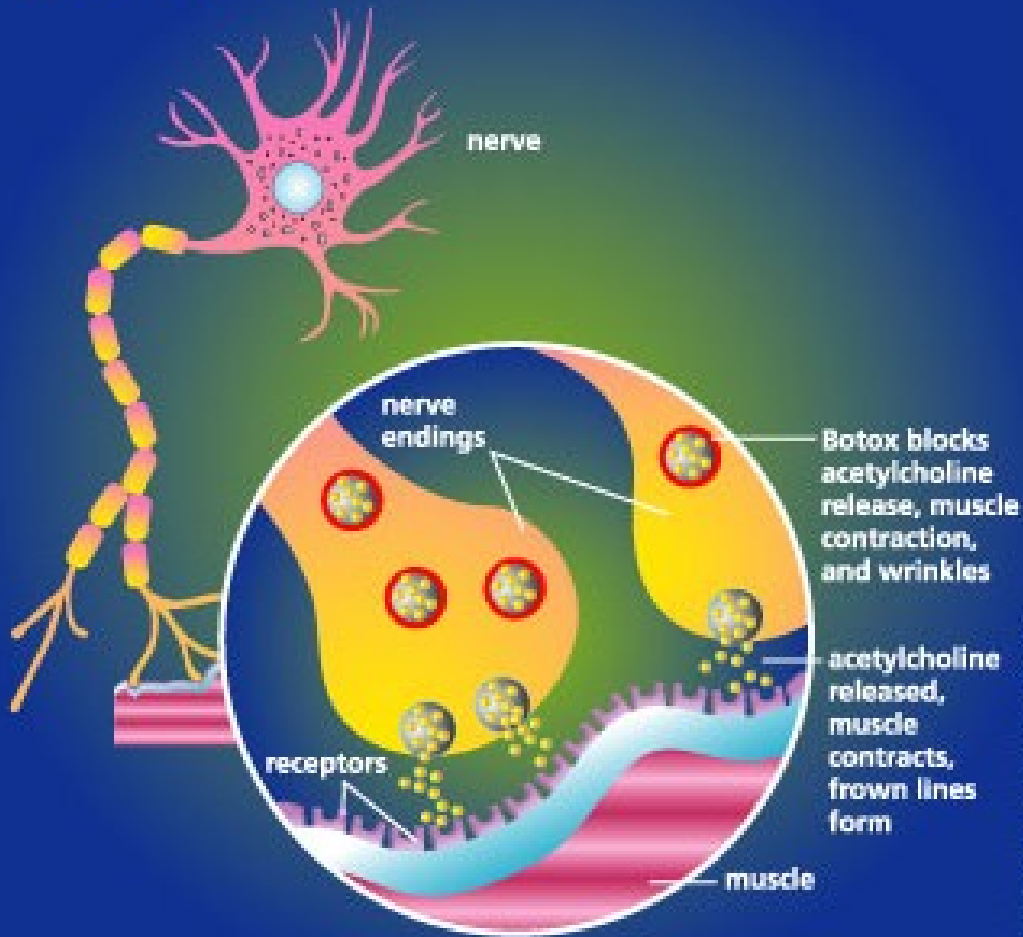
# Typický vzhled jazyka při botulismu





# Botox: použití jedu *Clostridium botulinum* pro mladistvý vzhled

## How Botox Works



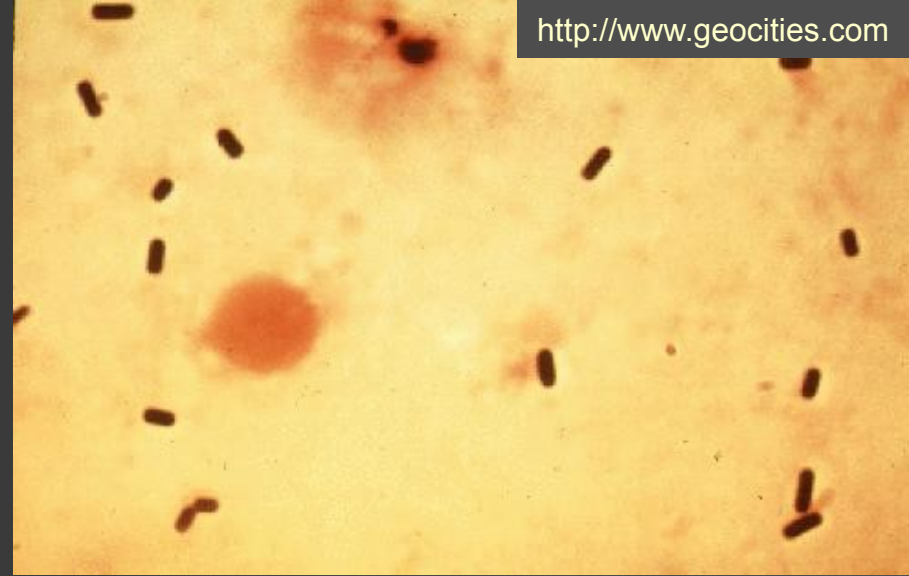
Infographic by Renée Gordon

## Příběh druhý



- **Mustafa, kosovský Albánec**, 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

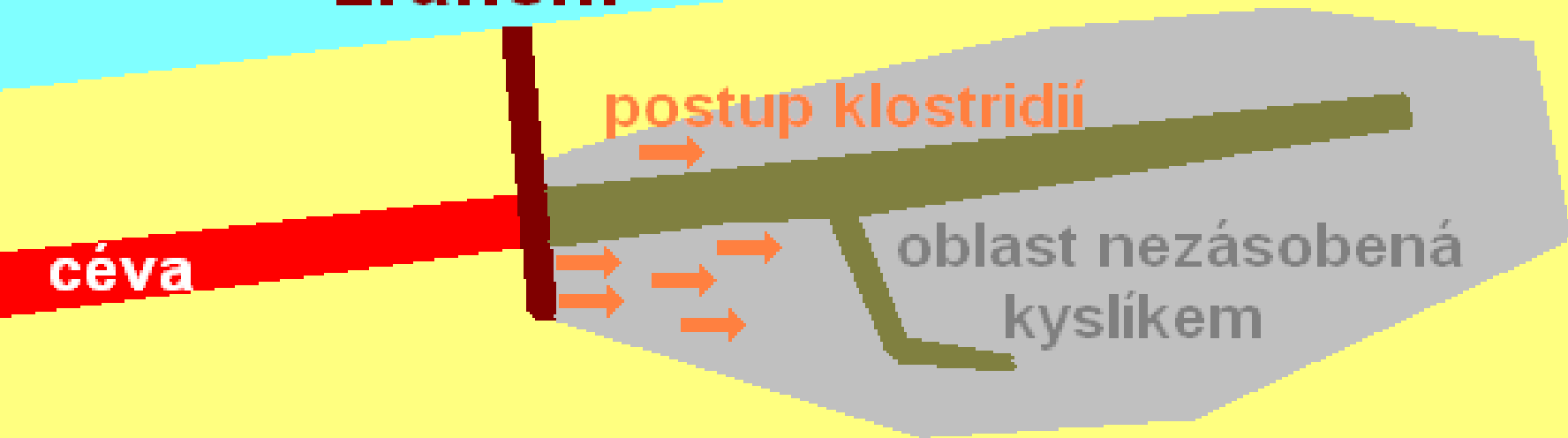


- *Clostridium perfringens*, jeden z původců plynaté sněti (spolu s *C. novyi*, *C. septicum* aj.)
- Plynatá sněť je typické **válečné onemocnění**.  
Může se však vyskytnout i v dobách míru, například při živelných pohromách
- **Klostridia plynatých snětí** – respektive jejich enterotoxiny – se také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

# Vznik plynaté sněti



**zranění**



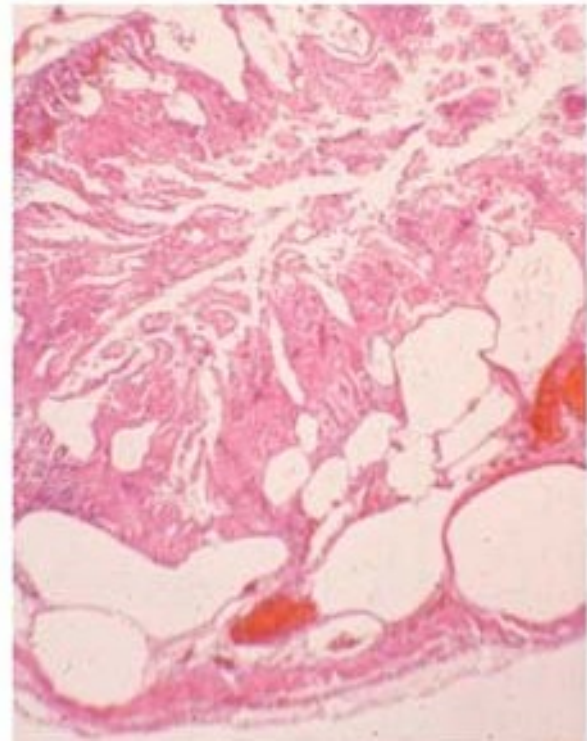
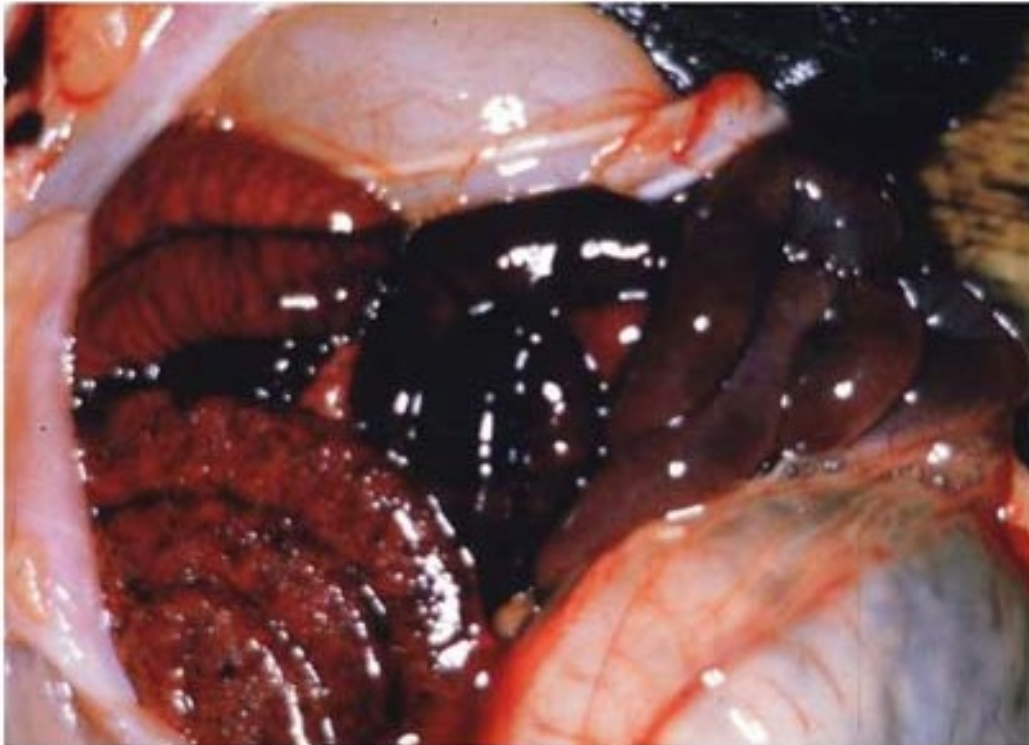
# Nekrotizující enterokolitida – i to může způsobovat *C. perfringens*

## 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>



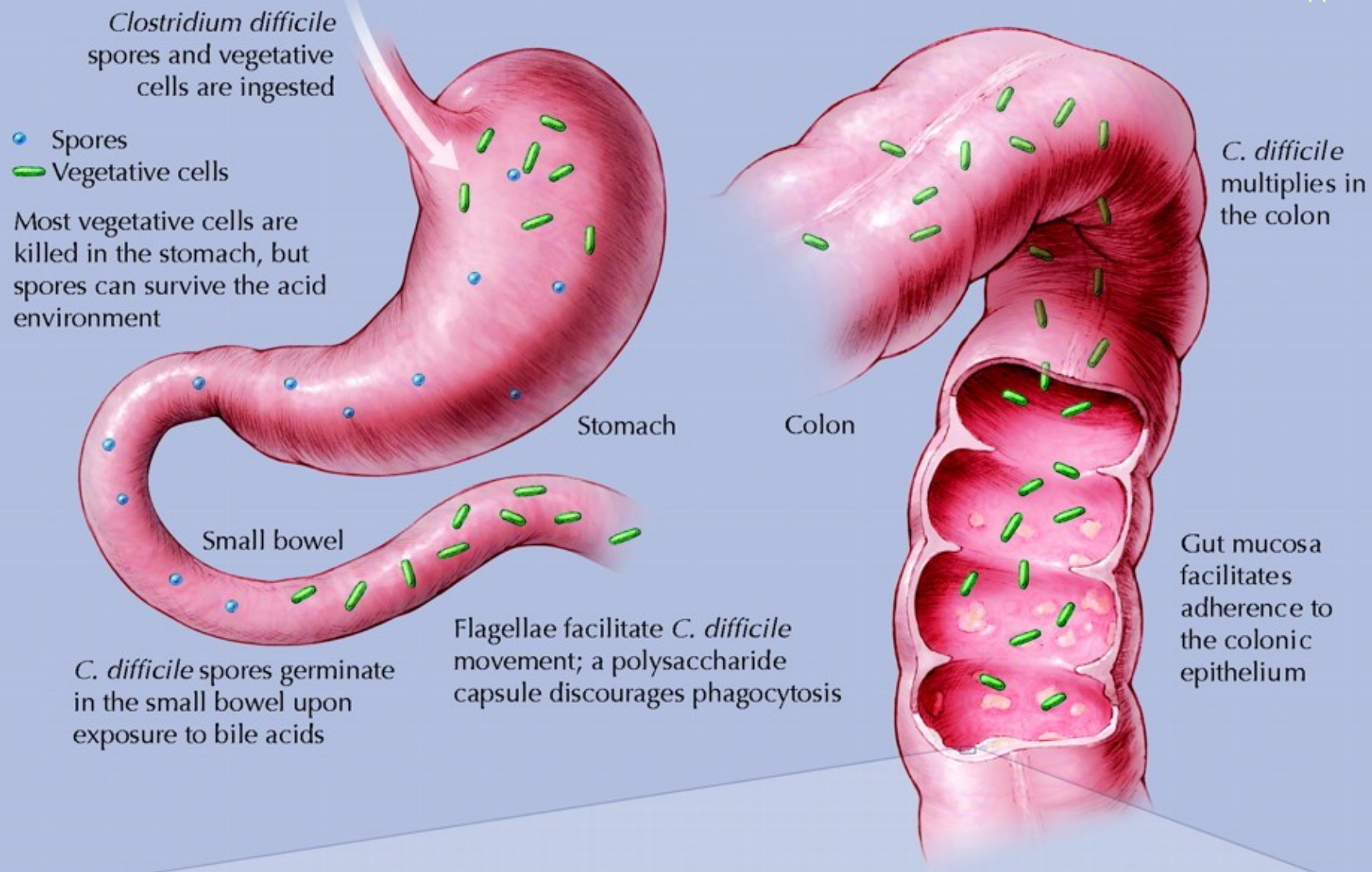
# Příběh třetí

- 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

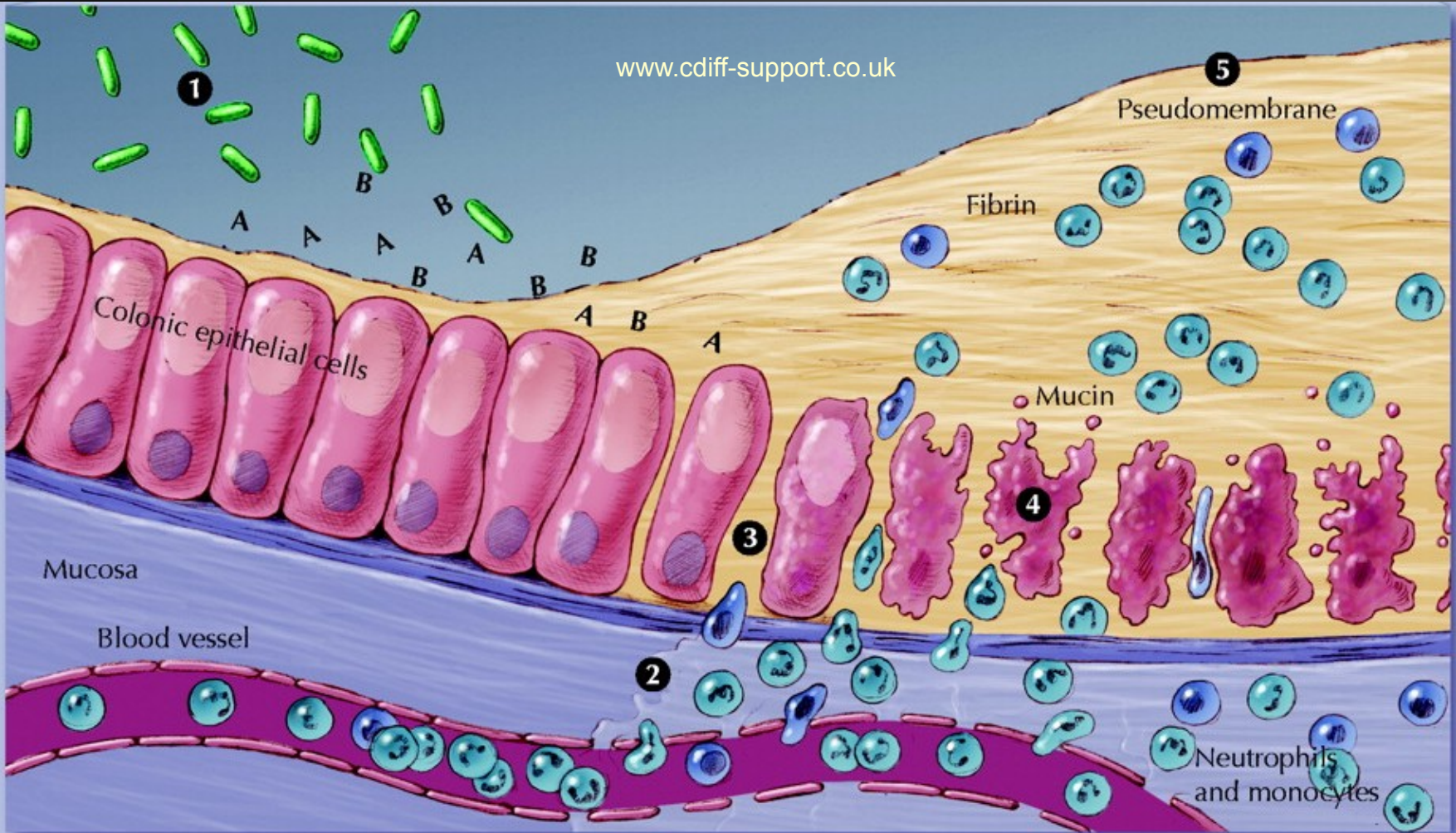
- *Clostridium difficile*, respektive jeho **toxin**
- Tento mikrob se vyskytuje ve střevě celkem běžně, problém však je, když začne produkovat toxin, a především, když mu někdo odstraní konkurenci a on se přemnoží.
- Odstranění konkurence způsobí nejčastěji **léčba některými typy antibiotik**, dříve nejčastěji linkosamidy, avšak bohužel dnes i řada dalších, například aminopeniciliny. 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





# *Clostridium difficile* a jeho činnost II



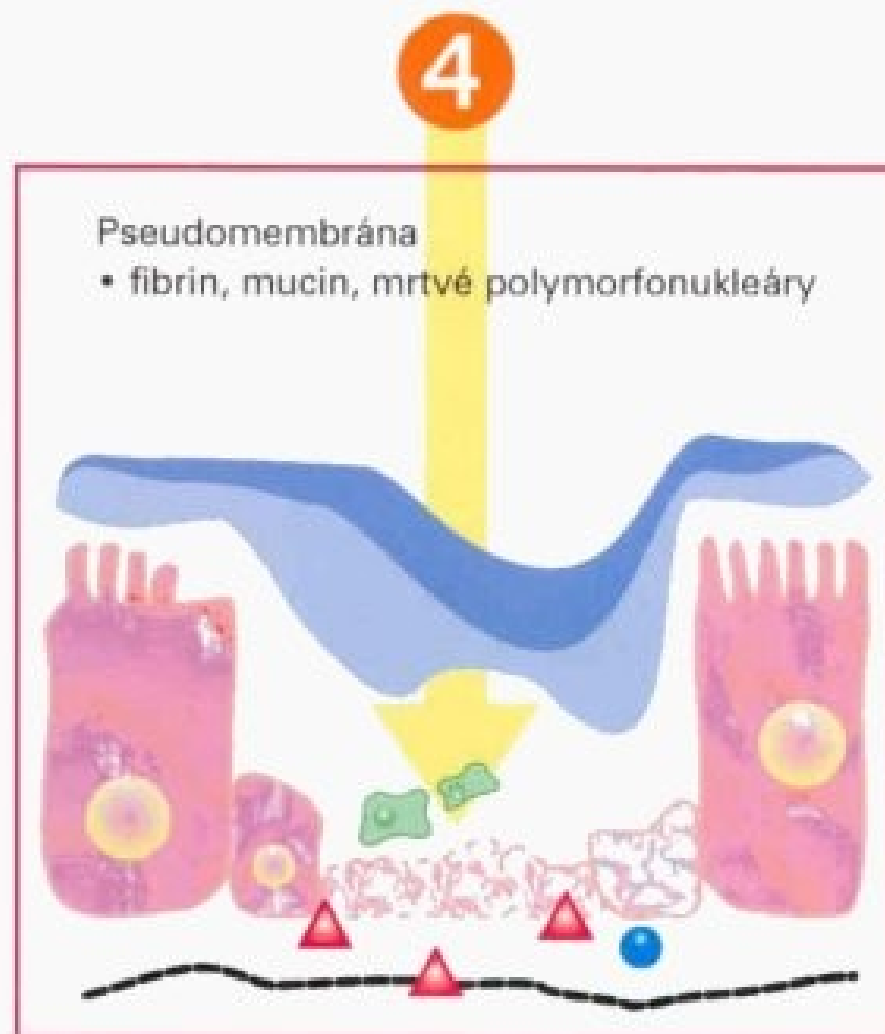
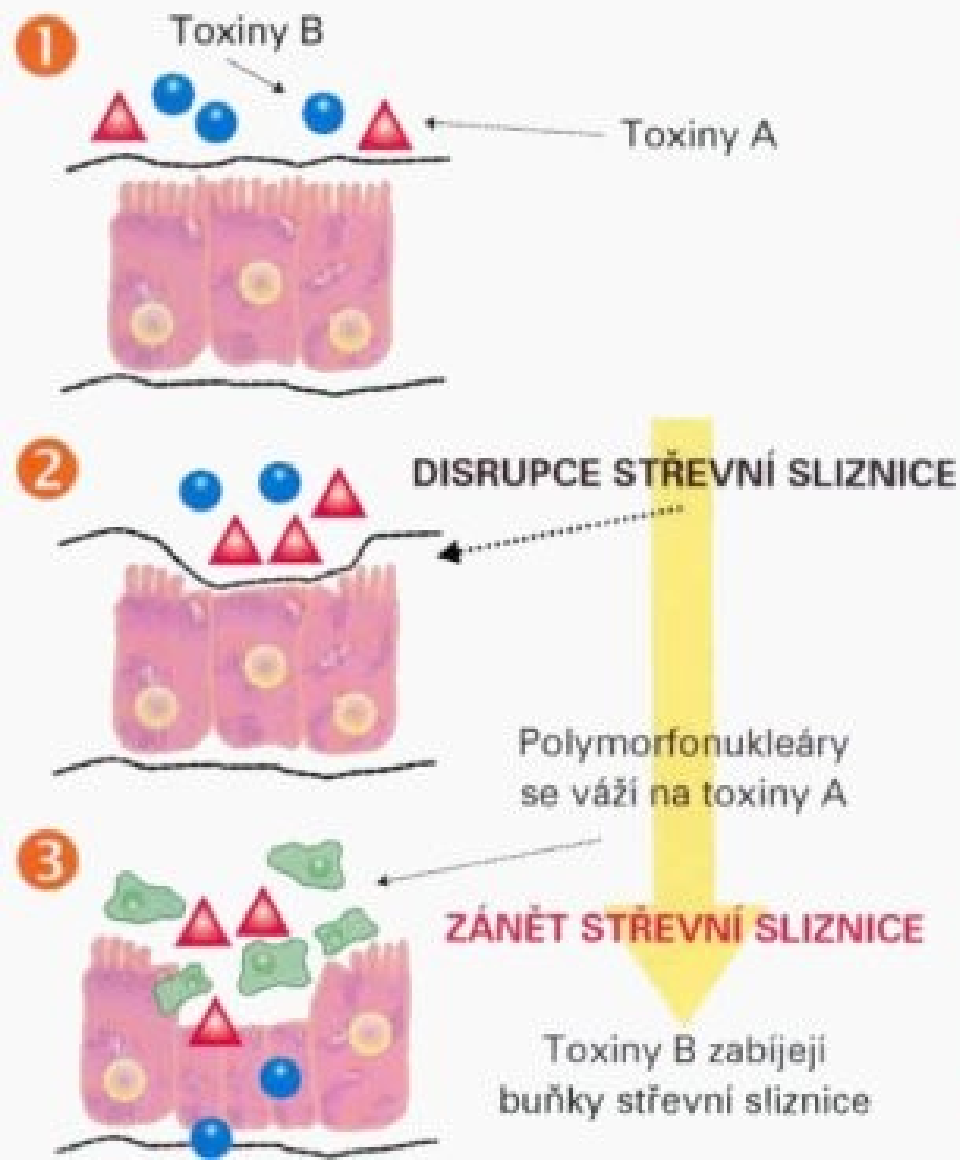
*C. difficile* vegetative cells produce toxins A and B and hydrolytic enzymes (1). Local production of toxins A and B leads to production of tumour necrosis factor-alpha and proinflammatory interleukins, increased vascular permeability, neutrophil and monocyte recruitment (2),

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

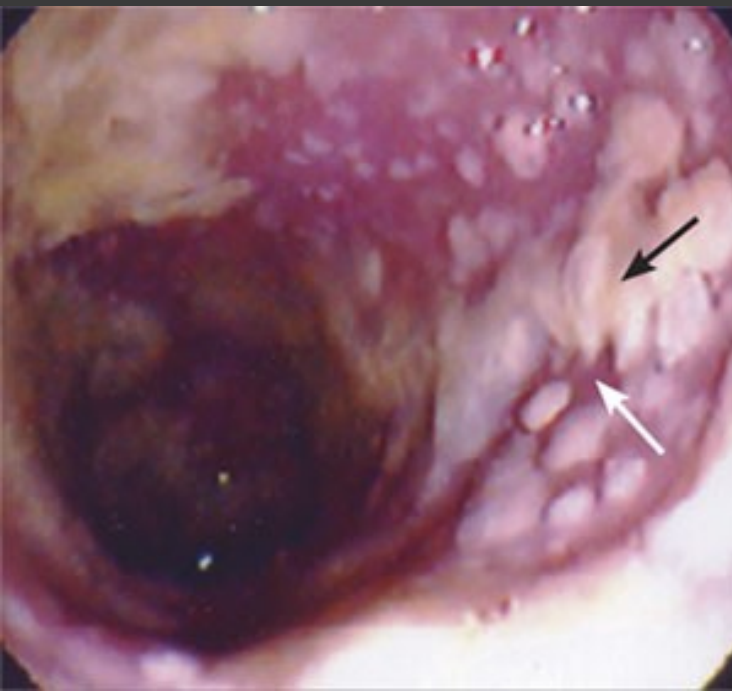
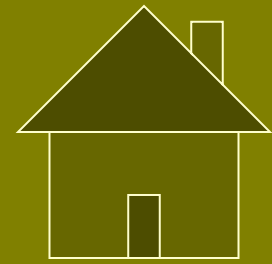


Figure 2. Colon Specimen Obtained during a Colectomy in a Patient with Pseudomembranous Colitis.

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.

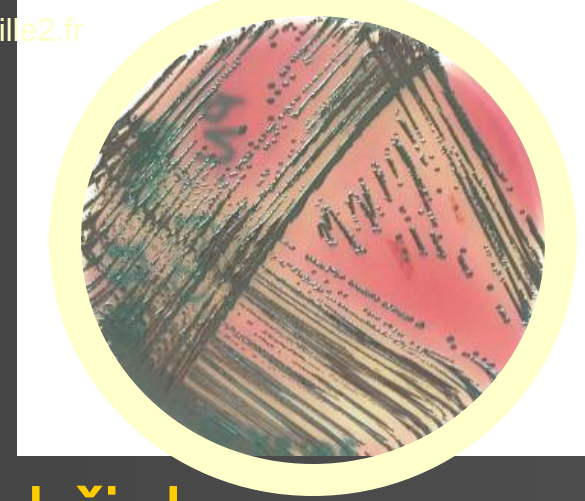
Klostridia plynatých snětí  
(+ enteropatogenita)

*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.

Nesporulující  
anaeroby (a  
laktobacily) –  
klinická  
charakteristika



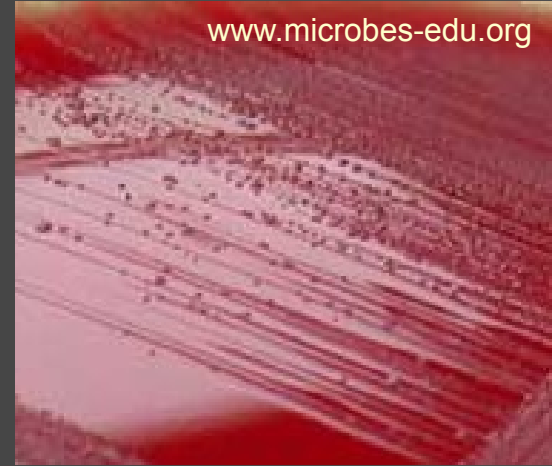
# Příběh čtvrtý

- 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.
- Nesporující striktně anaerobní mikroby mají vzhledem ke svým vlastnostem velmi omezené možnosti přenosu.
- Velká část infekcí je tedy endogenního původu

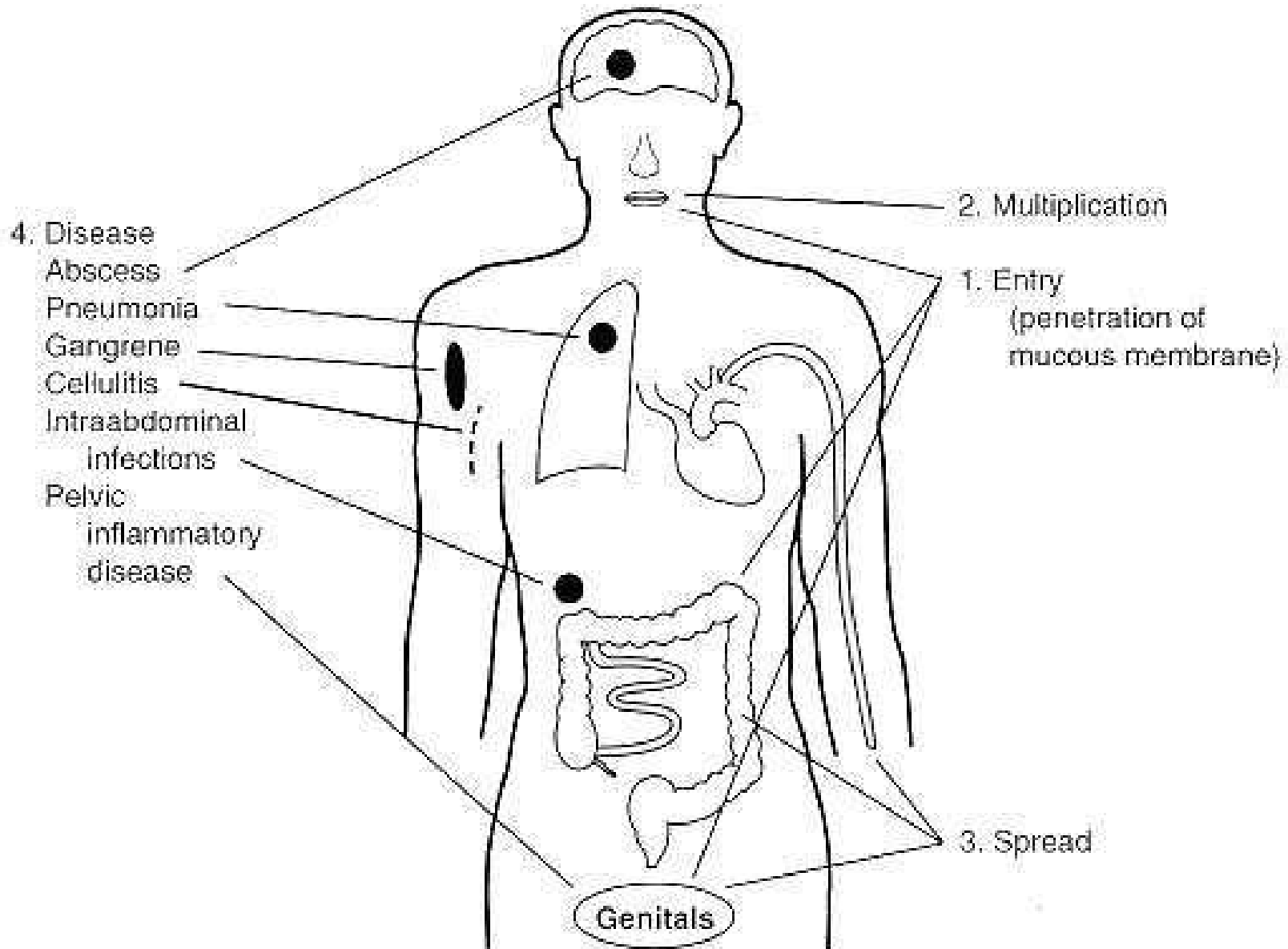
# Společné charakteristiky nesporelujících anaerobů



- 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“



# Anaerobes in the body



# Anaerobní infekce z ústní dutiny



# Novorozenecká anaerobní pneumonie

aapredbook.aapublications.org

*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



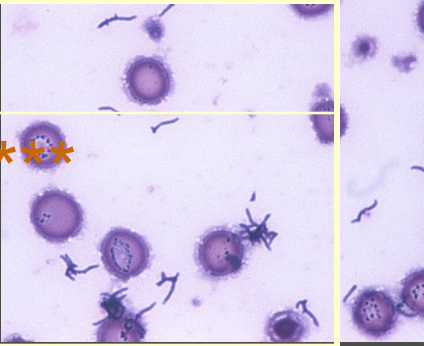
# Gingivostomatitis: *Prevotella gingivalis*

[www.mamagums.com](http://www.mamagums.com)



# 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> <a href="http://www.geocities.com">http://www.geocities.com</a>	<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

# Příběh pátý

- Paní Nováková měla chronické problémy s **poševními záněty**
- Lokální antibiotika ve formě vaginálních globulí či krému s aplikátorem vždy pomohla jen dočasně, pak se patogeny zase vrátily
- Nakonec jí gynekolog doporučil **probiotický preparát** se směsí „dobrých“ bakterií, které **zajistí návrat normální poševní mikroflóry** a nedovolí patogenům opětovné množení
- A hlavní „dobrá bakterie“ byl...

# *Lactobacillus acidophilus*, „Döderleinův bacil“



- Laktobacily jsou poměrně robustní grampozitivní tyčinky. Jmenují se laktobacily, protože fermentují různé substráty (glukózu, laktózu) na kyselinu mléčnou (laktát)
- Laktobacily jsou nejdůležitější součástí vaginální mikroflóry, a jsou také důležitou součástí mikroflóry střevní
- Laktobacily **nejsou anaerobní bakterie**. Nicméně, jelikož jsou často **mikroaerofilní**, nejsou zpravidla schopny růst za normální atmosféry. Na druhou stranu, nedokonalá anaerobióza našich běžných anaerostatů a anaerobních boxů jim umožňuje růst lépe.

# Vztah bakterií ke kyslíku (opakování)



# Připomeňme si, za jakých podmínek rostou jaké bakterie

Prostředí	Normální	↓ O <sub>2</sub>	↑ CO <sub>2</sub>	Bez O <sub>2</sub>
Striktní aeroby	ano	ano	ano	ne*
Fakultativ. anaeroby	ano	ano	ano	ano
Aerotolerantní bakt.				
Mikroaerofilní bakt.	ne	ano	(ano)	ne*
Kapnofilní bakterie	ne	(ano)	ano	ne*
Striktní anaeroby	ne	ne	ne	ano**

\*V praxi někdy vyrostou – běžně dosahovaná anaerobióza není dokonalá

\*\*V praxi někdy nevyrostou – běžně dosahovaná anaerobióza není dokonalá. Takové bakterie (EOS – Extremely oxygen sensitive) běžně nelze kultivovat

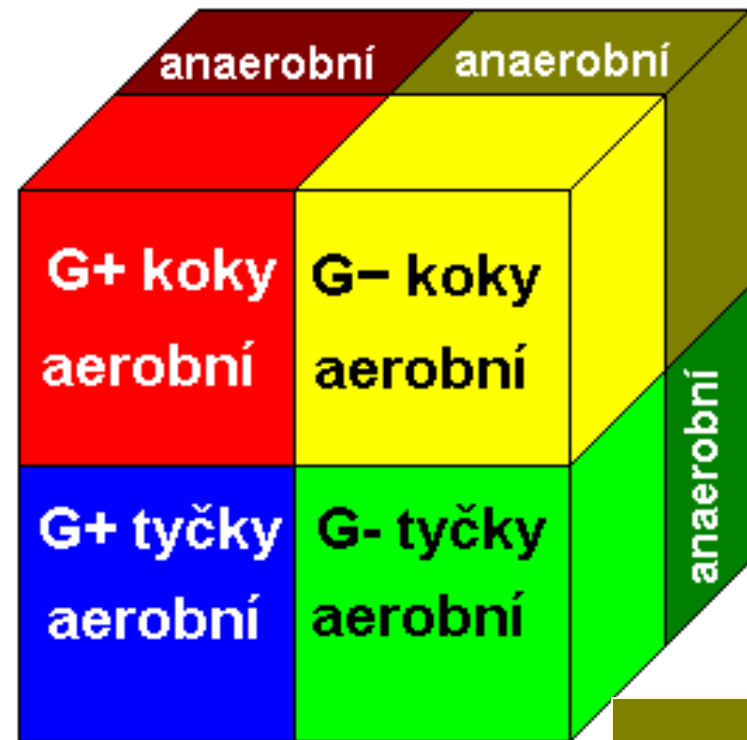
# Co jsme znali doted'

- V prakticích P1 až P6 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



# Diagnostika anaerobů a získávání anaerobiózy

# 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

# Odběr a transport vzorku na průkaz anaerobů

- Přednost má **tekutý vzorek**, např. hnis, nejlépe zaslaný ve stříkačce s krytkou (po odstříknutí přebytečného vzduchu)\*
- Pokud se zasílá výtěr, je nezbytné, aby byl zanořen **v transportní půdě**; stačí ale běžná, např. Amiesova půda
- Lze také domluvit s laboratoří **naočkování vzorku** přímo na půdy např. peroperačně

*\*dříve doporučený postup, kdy se na stříkačce ponechala jehla a zabodla do gumové zátky se již z bezpečnostních důvodů nedoporučuje*

# Mikroskopie anaerobních bakterií

- Podezřelé kmeny barvíme normálním způsobem podle Grama, rozlišujeme na koky a tyčinky, G+ a G-
- Anaerobní tyčinky jsou někdy velice různotvaré – v jednom preparátu najdete útvary od vláknitých až po prakticky kokovité

# Poznámka k mikroskopii anaerobů: různé tvary anaerobů

- Studenti někdy zaměňují spóru (útvár, který je neprobarvený, resp. jen slabě se rýsují jeho okraje) a **ztluštění 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)

C. tetani



jiné klostrid.



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





# *Clostridium tetani*

Terminální endospora

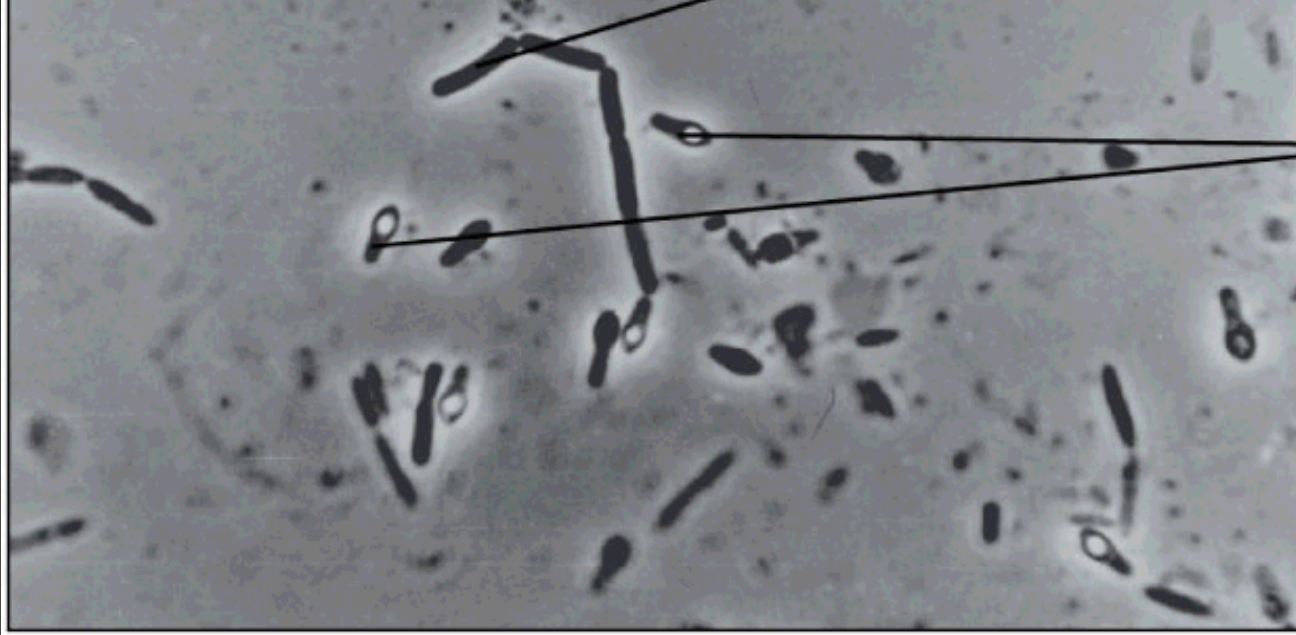


<http://www.geocities.com>



# *C. botulinum*

www2.bc.cc.ca.us



Vegetative cells

Endospore-bearing cells

10  $\mu$ m

# *Clostridium perfringens*

<http://www.geocities.com>



Endospory **nemusí** být  
v buňkách pokaždé  
viditelné!

# *Clostridium difficile*

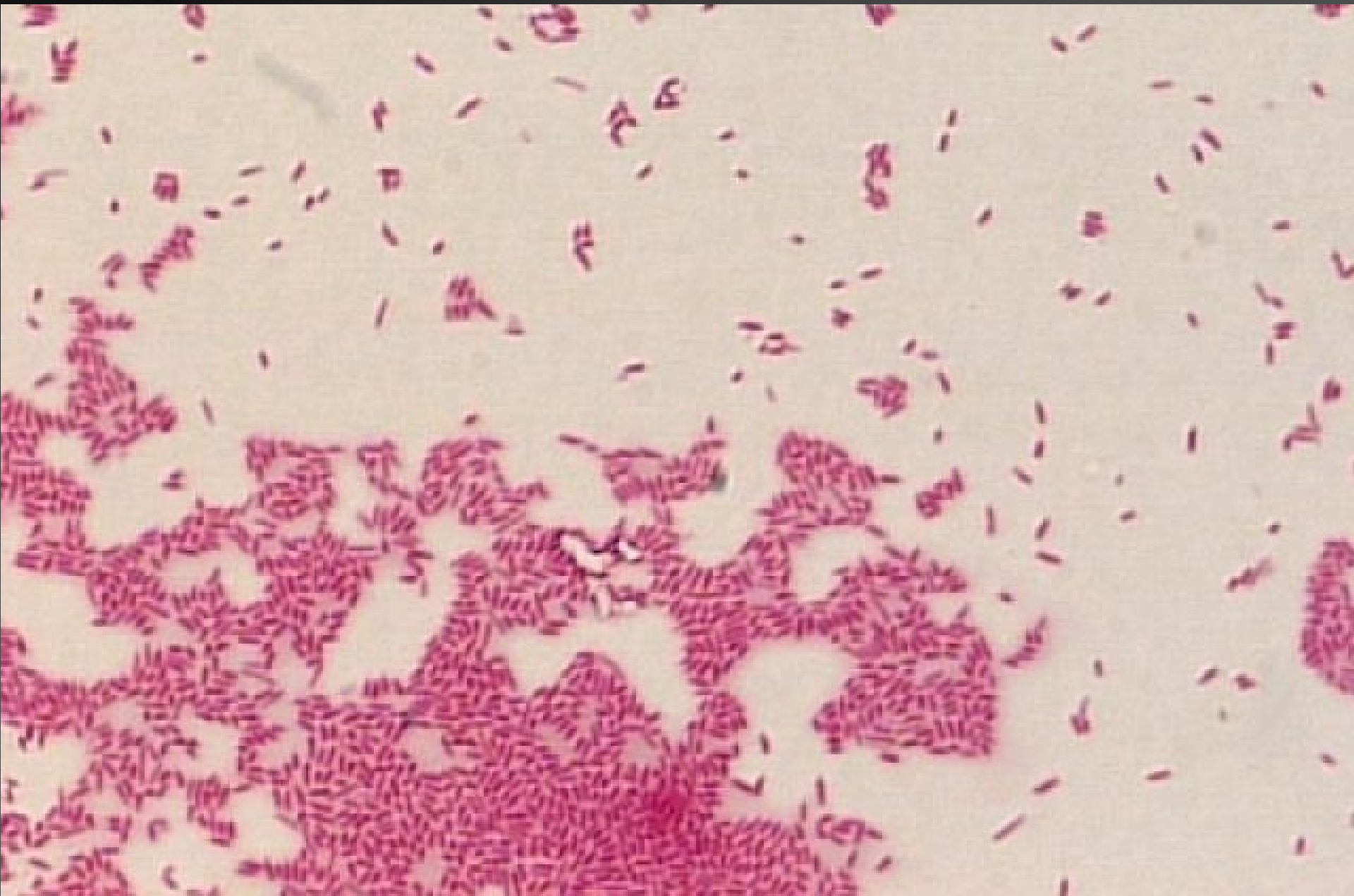


# *Clostridium difficile*



# *Bacteroides fragilis*

<http://www.geocities.com>  
Bacteroides fragilis



# *Bacteroides* sp.

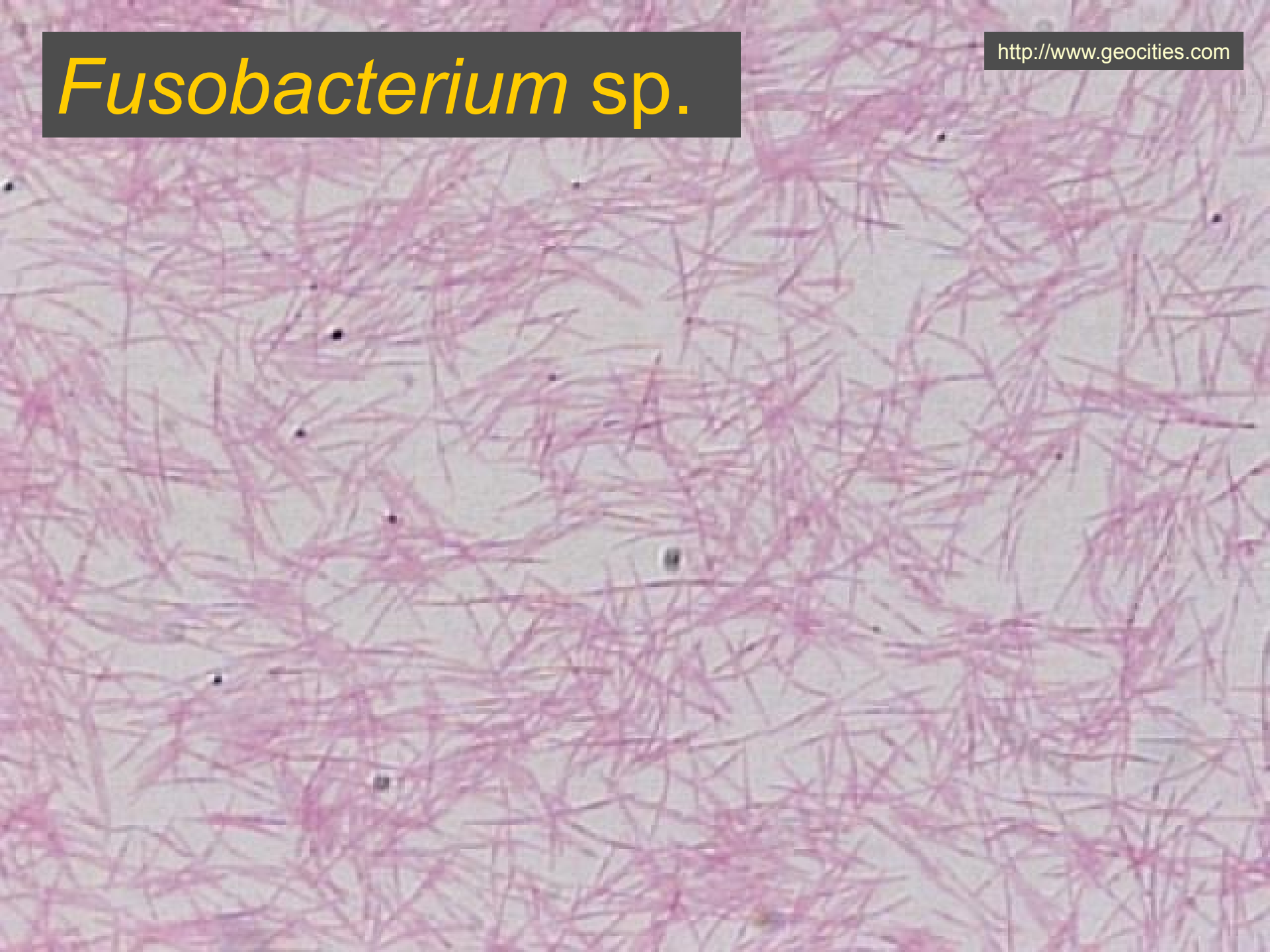
www.medmicro.info, foto O. Z.

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



# *Fusobacterium* sp.

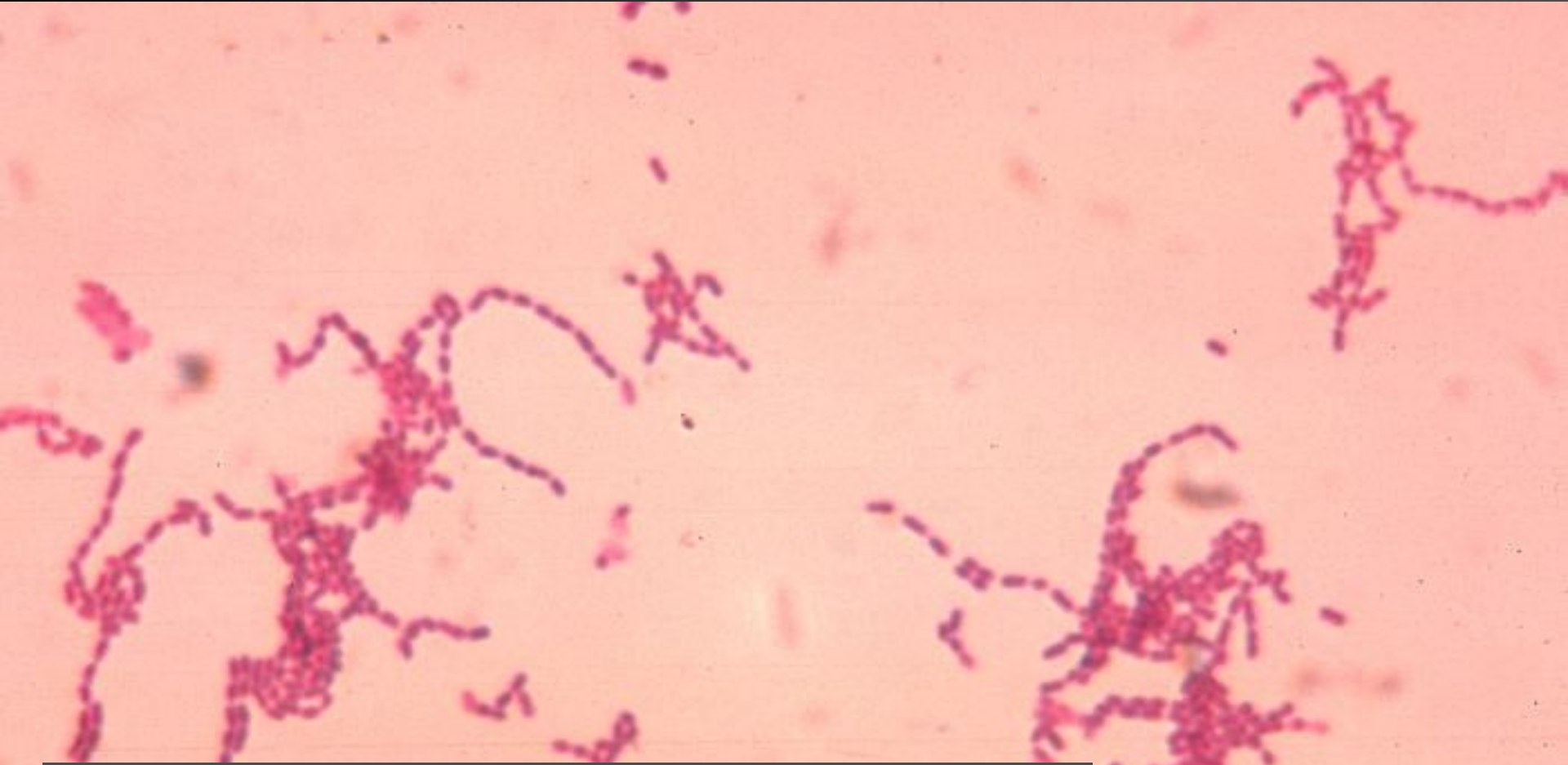
<http://www.geocities.com>





# *Peptostreptococcus* sp.

<http://www.geocities.com>



Peptostreptokoky jsou anaerobní G+ koky v řetízcích, zatímco peptokoky jsou anaerobní G+ koky ve shlucích.

# *Veillonella* sp.

*Veillonella* je  
velmi drobný  
anaerobní G–  
kůček



# Kultivace anaerobních bakterií

- Anaerobní bakterie rostou často v drobných, nepravidelných koloniích, které mají někdy výběžkaté okraje. Typický je pro ně také značný zápach.
- Aerobní kultivace na krevním agaru umožňuje růst striktně aerobních a fakultativně anaerobních bakterií. Když tu tedy bakterie neroste, avšak roste na anaerobních půdách, je to striktní anaerob. Pro kultivaci anaerobů používáme VL krevní agar (v praxi mu říkáme prostě VL agar)

# 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<sub>2</sub>**
  - v druhé fázi na palladiovém katalyzátoru **reaguje vodík s kyslíkem za vzniku vody**, takže se kyslík spotřebovává

# Přelévání VL-bujonů parafinem



# Anaerobní box



# Anaerobní box (podrobný popis)



zdroj anaerobních plynů

prostor pro vkládání misek

vstupy pro ruce personálu

# Anaerostat (princip)

Palladiový kalalyzátor  
(pod víčkem) nezbytný  
pro druhou fázi reakce

Generátor anaerobiózy  
(sáček s chemikáliemi)  
nutný pro celou reakci





# Anaerostat (podrobný popis)

vzduchotěsné víčko

palladiový kalalyzátor  
(pod víčkem)

konstrukce pro  
ukládání Petriho misek

Generátor anaerobiózy  
(sáček s chemikáliemi)



# Anaerostat jiné provenience

*Fusobacterium* sp.



# Morfologie kolonií anaerobních bakterií

- Klostridia mívají poměrně velké, nepravidelné, smrduté kolonie
- Jiné anaerobní bakterie mívají spíše drobné kolonie
- Některé anaerobní bakterie (*Prevotella melaninogenica*) mají pigmentované kolonie
- Je potřeba počítat s tím, že kultivace trvá déle než u anaerobů (2 dny až týden, u některých ještě déle)

*Clostridium*  
*perfringens*





*Clostridium  
septicum*

# *Prevotella melaninogenica* (černý pigment)

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



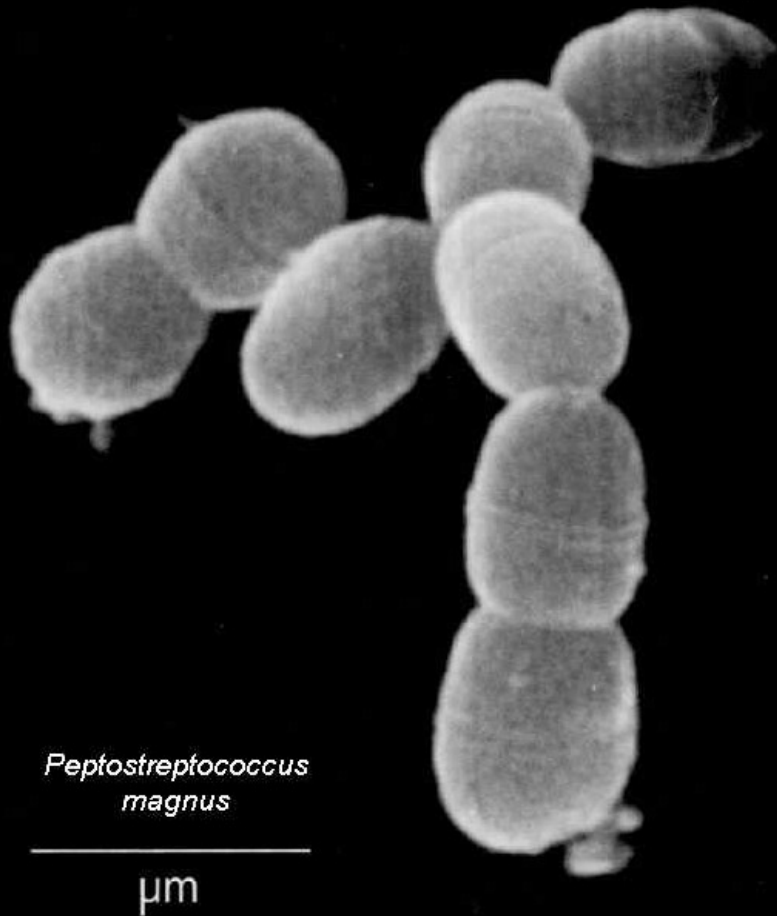
A petri dish containing a red agar medium. The surface of the agar is covered with numerous small, dark, pinpoint-sized spots, which are characteristic of Leptotrichia buccalis growth. The spots are distributed across the entire surface, with some areas appearing more densely populated than others. The petri dish is placed on a light-colored surface.

*Leptotrichia  
buccalis*

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

# *Peptostreptococcus magnus*

www.zuova.cz



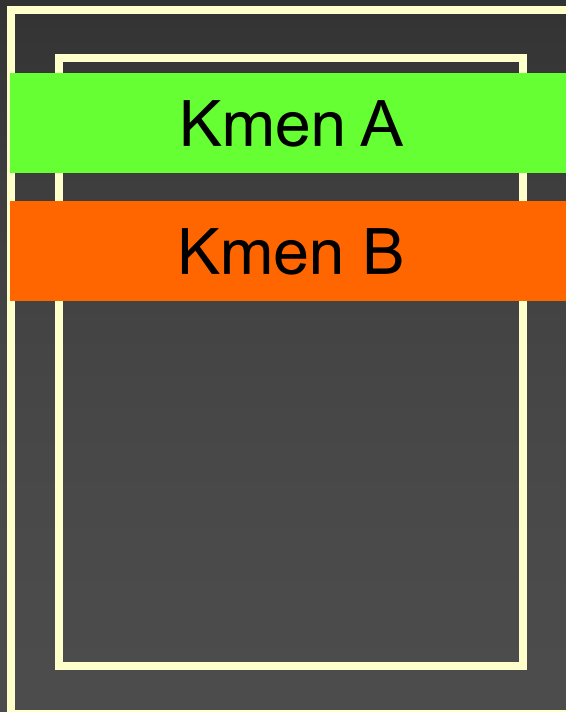
www.szu.cz

# *Peptostreptococcus anaerobius*



# Biochemické rozlišení

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



Zapíšeme **výsledky jednotlivých reakcí** („+“ nebo „-“) a spočítáme oktalogový kód

Výsledek se určí podle **kódové knihy**

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

# ANAEROtest 23 – příklad

NEC = negativní kontrola (proto je to ANAEROtest 23 a ne 24)

<b>+</b> <b>1</b>	<b>-</b> <b>1</b>	<b>+</b> <b>1</b>	<b>+</b> <b>1</b>	<b>-</b> <b>1</b>	<b>-</b> <b>1</b>	<b>-</b>	<b>+</b>
<b>-</b> <b>2</b>	<b>+</b> <b>2</b>	<b>+</b> <b>2</b>	<b>-</b> <b>2</b>	<b>+</b> <b>2</b>	<b>-</b> <b>2</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>+</b> <b>4</b>	<b>-</b> <b>4</b>	<b>+</b> <b>4</b>	<b>+</b> <b>4</b>	<b>+</b> <b>4</b>	<b>-</b> <b>4</b>	<b>+</b>	<b>NEC</b>
<b>5</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>0</b>		



# 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)

# Tabulka zón citlivosti – sestava použitelná pro anaeroby

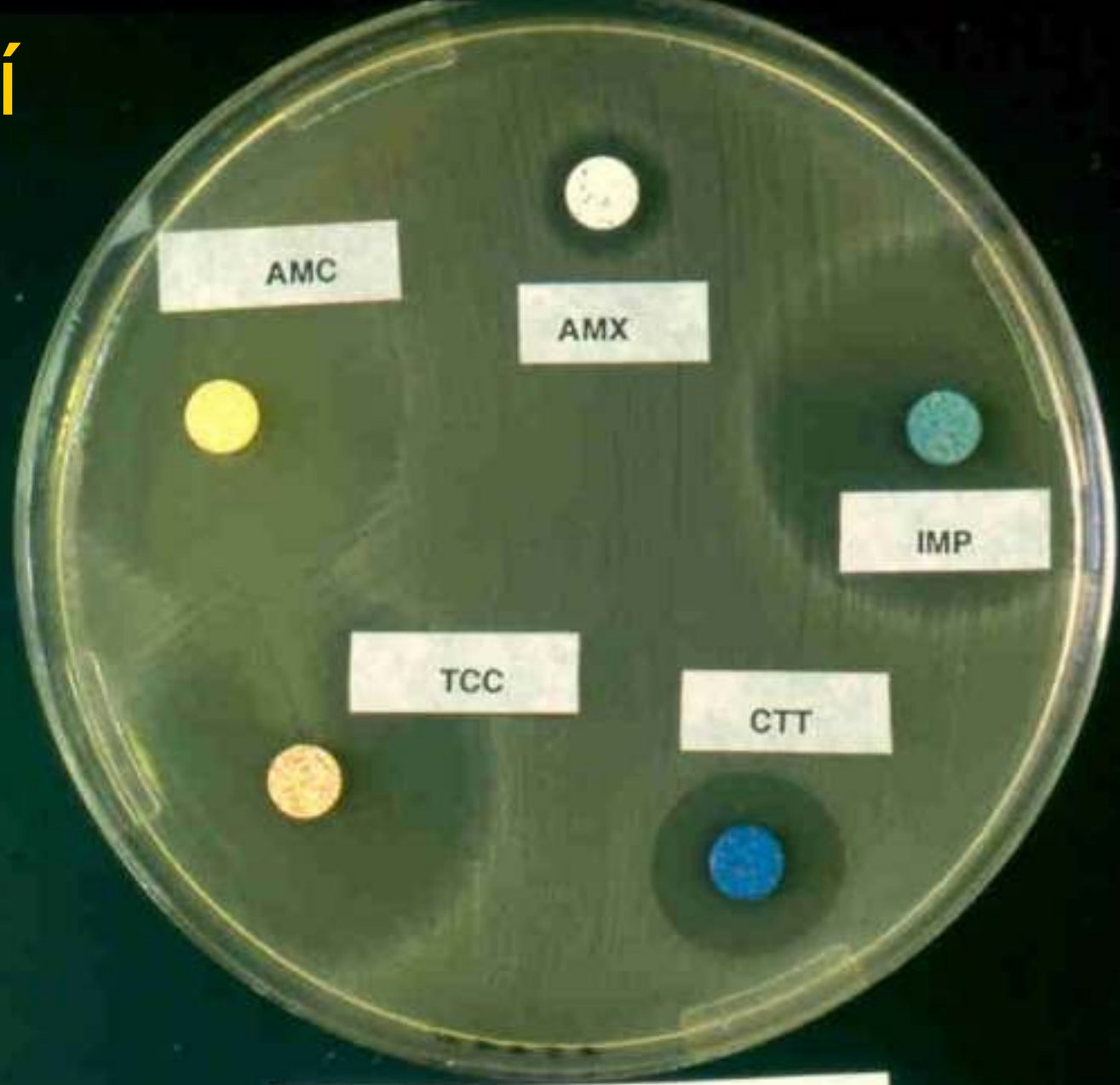
Antibiotikum	Zkratka	Referenční zóna
Penicilin (základ. penicilin)	P	20 mm
Amoxicilin + klavulanát (chráněný aminopenicilin)	AMC	20 mm
Chloramfenikol	C	21 mm
Klindamycin (linkosamid)	DA	21 mm
Imipenem (karbapenem)	IPM	16 mm
Metronidazol (imidazol)	MTZ	16 mm

# Typické citlivosti

- Typické je, že mnohé anaeroby jsou rezistentní na vankomycin a/nebo amikacin. (Zároveň jsou přítom citlivé na „slabší“ antibiotika, jako je penicilin či metronidazol; na snímku)



# Ilustrační foto



*B. fragilis* ATCC 25285

# Detekce toxinu I: průkaz lecitinázy

- 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



# Detekce toxinu II: průkaz tetanového a botulického toxinu pokusem na zvířeti

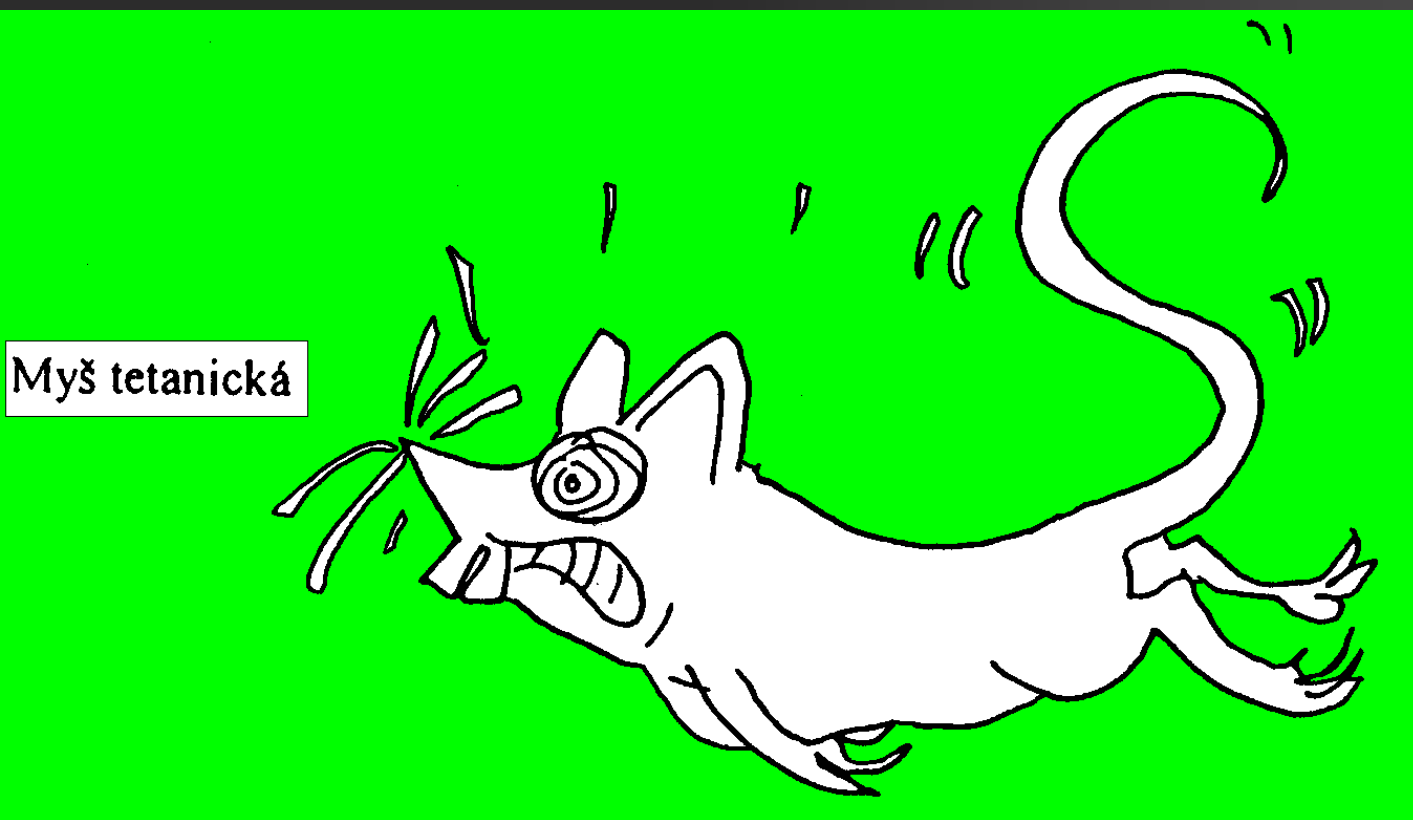
- **Pokus na zvířeti** se používá u tetanu a botulismu. U tetanu se myš svíjí v křeči, u botulismu jsou naopak patrné parézy.



Tetanická myš

# Průkaz toxinu pokusem na zvířeti

- Prohlédněte si obrázek tetanické myši.



Myš tetanická

Obrázek Petra Ondrovčíka  
(1959–2007)

Graficky upraveno.

Pozadí dobarveno nikoli  
malachitovou zelení, nýbrž  
programem „Malování“ od  
neoblíbené firmy Microsoft

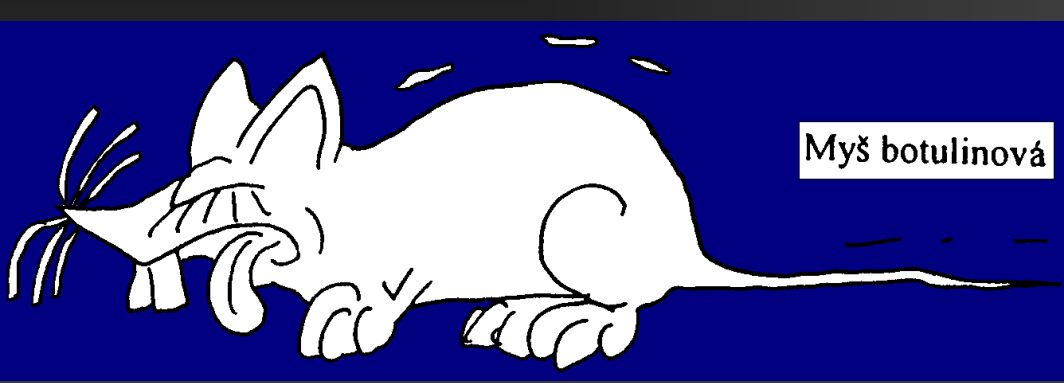
[www.biotox.cz](http://www.biotox.cz)



Podobně jako myš se do opistotonu dostává i pacient

# Vzhled pokusného zvířete je sledován i u jiných stavů, např. u botulismu.

- U botulismu převažují parézy, nikoli spasmy.



# Detekce toxinu III: Imunochromatografický test na průkaz toxinu *Clostridium difficile*

- Imunochromatografické testy jsou založeny na **navazování jednotlivých komponent**, podobně jako u reakcí ELISA či a imunofluorescence
- Nejklasičtějším příkladem je **těhotenský test**
- Princip byl vysvětlen v praktiku **J09**. Týká se především kmenů ***Clostridium difficile* produkujících toxin**.

***V pozitivním případě je zpravidla viditelný proužek reakce i proužek kontroly . V negativním případě je viditelný pouze proužek kontroly.***

# Princip (jen pro ilustraci)

+

Testo-  
vací  
oblast



Kontrol  
ní  
oblast



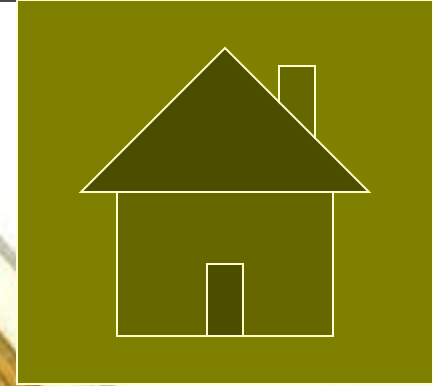
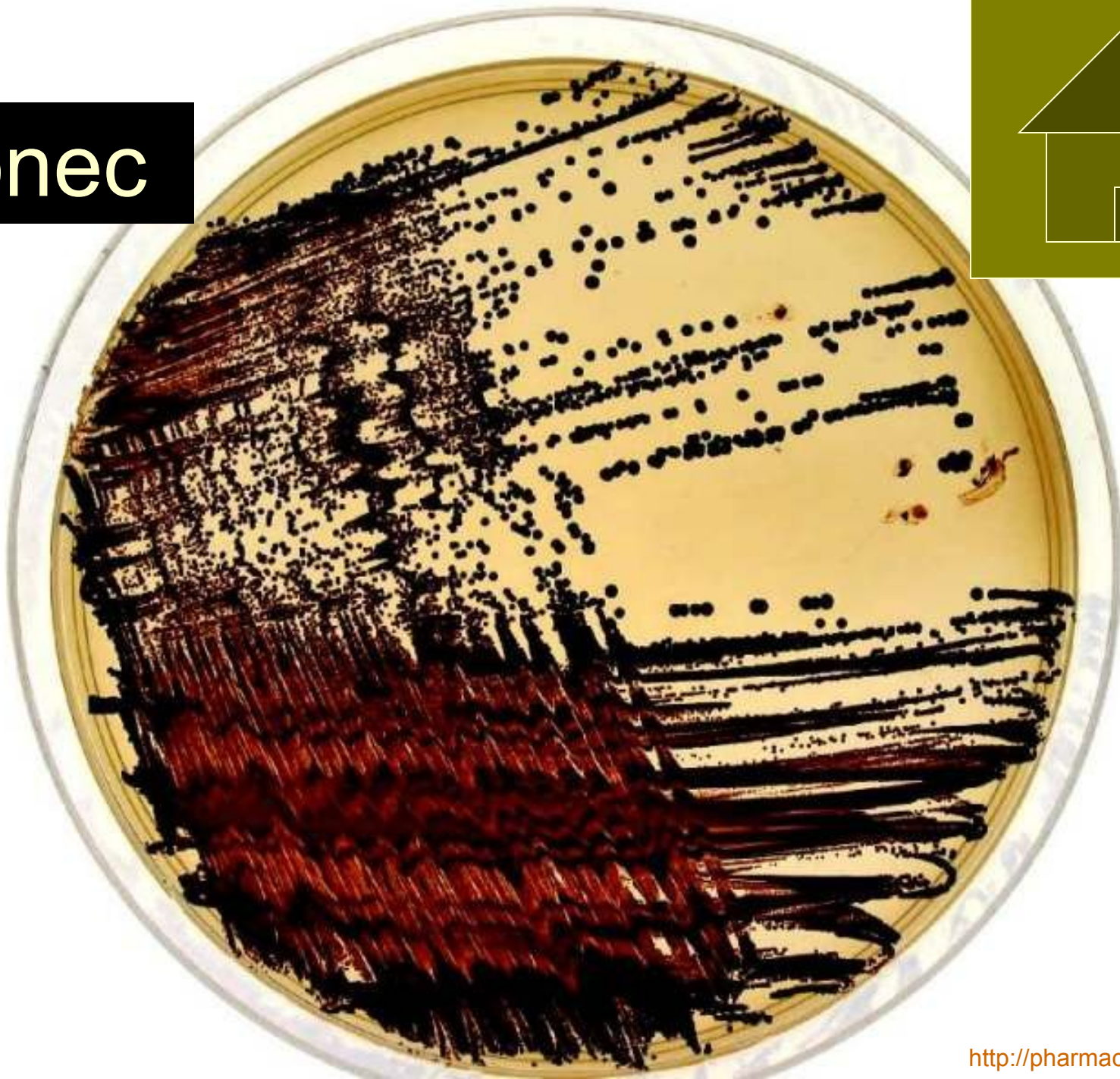
-



# Praktické pátrání po anaerobech – příklad u vaginálních výtěrů

- Je-li u vaginálních výtěrů požadována anaerobní kultivace, používá se VL agar s disky vankomycinu a amikacinu. Anaerobní bakterie zpravidla rostou mezi těmito dvěma disky.
- Kromě případných bakterií zpravidla vidíme mnoho kolonií **poševních laktobacilů**, mikroaerofilních bakterií často nalézáných v poševních výtěrech. Při běžné aerobní kultivaci je nacházíme zřídka.
- Naše nedokonalá anaerobióza tedy umožňuje i růst mikroaerofilních mikrobů.

Konec



*Bonusový  
materiál:  
povídání o  
očkování*



# Aktivní imunizace

- **Aktivní imunizace = očkování:** do organismu je vnesena očkovací látka, obsahující antigen. Tělo je antigenem "vyprovokováno" a vytváří protilátky.
- **Očkování proti TBC – výjimka:** cílem zde není vyvolat tvorbu protilátek, ale tvorbu buněčné imunity, což souvisí se zvláštními mechanismy u TBC infekce

# Očkovací látky proti bakteriálním nákazám I

- **Očkování živými bakteriemi** se používá u tuberkulózy. Očkování se provádí ihned po narození a nepřeočkovává se, jen se kontroluje stav imunity (tzv. tuberkulínovým testem).
- **Bakteriny** – celé usmrcené bakterie. Například očkování proti černému kašli, způsobenému *Bordetella pertussis*.

# Očkovací látky proti bakteriálním nákazám II

- **Anatoxiny neboli toxoidy** – tam, kde bakterie škodí hlavně prostřednictvím toxinů (jedů). Anatoxin = jed zbavený jedovatosti (toxicity), který si zachovává antigenní působení. Např. očkování proti tetanu a záškrtu.
- **Čištěné povrchové antigeny** (např. polysacharidové), např. *Haemophilus influenzae* b, *Neisseria meningitidis* aj.

# Očkovací látky proti virovým nákazám

- **Živé vakcíny** – pěstují se oslabené kmeny virů na buněčných kulturách. U oslabených osob mohou vyvolat různé reakce. Spalničky, zarděnky, příušnice; na lžičce podávaná (IgA!!) – dětská obrna (Sabin).
- **Usmrcený virus.** Virus je vypěstován a poté usmrcen, nejčastěji formaldehydem. Klíšťová encefalitida, žloutenka A, injekční dětská obrna (Salk) – nyní podáváno
- **Chemovakcíny.** Antigen byl získán „chemickou“ cestou (rekombinací DNA). Např. látka Engerix proti hepatitidě B.

# Druhy očkování

- **Základní očkování** – dnes již deset očkování tzv. očkovacího kalendáře
- **Očkování mimo tento základ, např.**
  - **Očkování u profesionálního rizika** (hepatitida B u zdravotníků, klíšťová encefalitida u lesníků)
  - **Očkování před cestou** (žlutá zimnice...)
  - **Očkování pro oslabené** (chřipka)
  - **Očkování profylaktické** (vzteklina)
  - **Očkování na přání** (chřipka, klíšťová encefalitida)

# Druhy očkování

- **Základní očkování** – dnes již deset onemocnění, proti nimž se očkuje tzv. očkovacího kalendáře, (TBC, hexavakcína, trivakcína MMR + přeočkování)
- **Očkování mimo tento základ, např.**
  - **Očkování u profesionálního rizika** (hepatitida B u zdravotníků, klíšťová encefalitida u lesníků)
  - **Očkování před cestou** (žlutá zimnice...)
  - **Očkování pro oslabené** (chřipka)
  - **Očkování profylaktické** (vzteklina)
  - **Očkování na přání** (chřipka, klíšťová encefalitida)

# Očkovací kalendář 2009 s vyznačením změn 2010

VĚK	NEMOC, proti které očkujeme
<b>1. rok až 9. týden</b>	<b>tuberkulóza</b>
13. - 16. týden 1. dávka <u>hexavakcíny</u>  dříve	<ul style="list-style-type: none"> <li>záškrť</li> <li>tetanus</li> <li>dávivý kašel</li> <li>invazivní onemocnění <u>Haemophilus influenzae</u></li> <li>přenosná dětská obrna</li> <li>žloutenka typu B</li> </ul>
17. - 20. týden 2. dávka <u>hexavakcíny</u>	dtto
21. - 24. týden 3. dávka <u>hexavakcíny</u>	dtto
13. - 18. měsíc 4. dávka <u>hexavakcíny</u>	dtto
15. - 18. měsíc	• spalničky, příušnice, zarděnky (1. dávka)
21. - 28. měsíc	• spalničky, příušnice, zarděnky (2. dávka) přeočkování v minimálním odstupu 6 - 10 měsíců, horní věková hranice není omezena
2. rok	• tuberkulóza pouze u dětí s negativní tuberkulinovou zkouškou a u dětí bez jizvy po očkování
5. - 6. rok	• záškrť, tetanus, dávivý kašel přeočkování
10. - 11. rok	• dětská přenosná obrna přeočkování
11. - 12. rok	• tuberkulóza přeočkování pouze u dětí s negativní tuberkulinovou zkouškou
12. - 13. rok	• žloutenka typu B pouze u dětí, které nebyly očkovány v prvních měsících života (3 dávky v rozestupu 0, 1 a 6 měsíců)
14. - 15. rok	• tetanus přeočkování, další vždy po 10 - 15 letech

VĚK	NEMOC, proti které očkujeme
1. den až 6. týden	tuberkulóza
13. až 16. týden 1. dávka <u>hexavakciny</u>  dříve	<ul style="list-style-type: none"> <li>• záškrt</li> <li>• tetanus</li> <li>• dávivý kašel</li> <li>• invazivní onemocnění <u>Haemophilus influenzae</u></li> <li>• přenosná dětská obrna</li> <li>• žloutenka typu B</li> </ul>
17. - 20. týden 2. dávka <u>hexavakciny</u>	dtto
21. - 24. týden 3. dávka <u>hexavakciny</u>	dtto
13. - 18. měsíc 4. dávka <u>hexavakciny</u>	dtto
15. - 18. měsíc	• spalničky, příušnice, zarděnky (1. dávka)
21. - 28. měsíc	• spalničky, příušnice, zarděnky (2. dávka) přeočkování v minimálním odstupu 6 - 10 měsíců, horní věková hranice není omezena



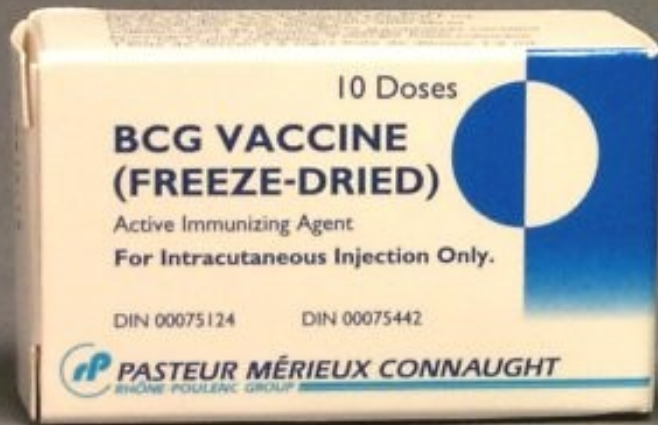
<b>2. rok</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>tuberkulóza</b> pouze u dětí s negativní tuberkulinovou zkouškou a u dětí bez jizvy po očkování</li></ul>
<b>5. - 6. rok</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>záškrť, tetanus, dáivivý kašel</b> přeočkování</li></ul>
<b>10. - 11. rok</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>dětská přenosná obrna</b> přeočkování</li></ul>
<b>11. - 12. rok</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>tuberkulóza</b> přeočkování pouze u dětí s negativní tuberkulinovou zkouškou</li></ul>
<b>12. - 13. rok</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>žloutenka typu B</b> pouze u dětí, které nebyly očkovány v prvních měsících života (3 dávky v rozestupu 0, 1 a 6 měsíců)</li></ul>
<b>14. - 15. rok</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>tetanus</b> přeočkování, další vždy po 10 – 15 letech</li></ul>

# Očkování proti TBC

- Očkovalo se **samostatně**, u nás první týden po narození (nyní se očkují jen rizikové děti)
- Během dalších let se provádí tzv. **tuberkulinová zkouška** – kožní test buněčné imunity. Pokud je negativní, očkuje se znovu. Pozor, očkovat ty, kteří imunitu mají, by bylo nebezpečné
- Nedávné zrušení očkování je důsledkem snížení počtu případů. Na druhou stranu někteří se zrušením nesouhlasí, například upozorňují, že očkování do jisté míry chránilo i proti mykobakteriózám (způsobeným netuberkulózními mykobakteriemi)

# Očkování proti TBC

[www.indoindians.com/health/vaccine.htm](http://www.indoindians.com/health/vaccine.htm)



Calmette-Guérinův  
bacil (odtud pojem  
„kalmetizace“)



# Očkování proti tetanu

- Očkuje se **v kombinaci** spolu s dalšími pěti chorobami
- Kromě **přeočkování** hexavakcínou v prvním roce života se v 11–12 letech přeočkovává i trivakcínou (klasické „di-te-pe“)
- Látka je **anatoxin** (toxin zbavený toxicity, ale se zachovanou antigenní účinností)
- Tetanus dnes není běžný, ale je natolik závažný, že očkování je stále namístě. Tetanická klostridia se i dnes vyskytují ve střevě zvířat, a tedy i v zemi, pokud by se neočkovalo, bylo by riziko velké

# Očkování proti záškrtu

## Očkování proti černému kašli

- Očkuje se **v kombinaci**
- Kromě **přeočkování** hexavakcínou v prvním roce života se v 11–12 letech přeočkovává i trivakcínou (klasické „di-te-pe“)
- **Látka** proti záškrtu je anatoxin, proti černému kašli jde o směs anatoxinu a dalších antigenů
- Záškrt je stále aktuální, zejména vzhledem k migraci z postsovětských republik, kde se difterie i pertuse stále občas vyskytují
- U nás se oboje vyskytuje občasně

# Očkování proti „Hib“

- Jde o očkování proti *Haemophilus influenzae*, a to proti opouzdřeným kmenům s pouzderným typem **b**
- Látka je **čištěný polysacharid**
- Očkuje se **v kombinaci**
- Bylo zavedeno před několika lety a po jeho zavedení **významně poklesl počet invazivních hemofilových infekcí předškoláků** (záněty mozkových blan, plic, příklopky hltanové)

# Očkování proti hepatitidě B

- Očkuje se **v kombinaci** (u těch, kteří nebyli očkováni jako malé děti, i samostatně nebo dohromady s hepatitidou A). Očkovací látka je **vakcína vyrobená rekombinantně** na kvasince *Saccharomyces cerevisiae*
- Další z poměrně nedávno zavedených očkování – i dříve ovšem používáno, ale jen u rizikových skupin (např. děti HBsAg pozitivních matek) či profesního rizika (zdravotníci)

# Očkování proti dětské obrně

- Nedávno se přešlo na **injekční Salkovu vakcínu (usmrcený virus)** která umožňuje kombinaci s několika jinými vakcínami (hexavakcína)
- Přeočkování v 10–11 letech se očkuje **samostatně**
- Dříve se používala se **perorální Sabinova vakcína – živý virus**. Je velmi účinná, ale má riziko komplikací, i když jen nepatrné
- U nás se dětská obrna nevyskytuje, ale vyskytuje se v Asii a nedávno i v JV Evropě, takže cíl, kterým je celosvětová eradikace tohoto závažného onemocnění, je ještě daleko



<http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Stamp-ctc-polio-vaccine.jpg>



Salk a  
Sabin

<http://www.hindu.com/seta>



# Očkování proti spalničkám

- Očkuje se **v trojici se zarděnkami a příušnicemi**, ve všech třech případech jde o živé viry
- U těchto očkování se nejčastěji objevují pochyby, jestli je nutné a vhodné
- Ovšem spalničky jsou poměrně nepříjemné, pro dítě bolestivé onemocnění, a způsobují ekonomické ztráty (absence rodiče v práci)
- Existuje i riziko sklerotizující spalničkové panencefalitidy (zánětu mozku), hlavně u dospělých. Je velmi vzácné, ale závažné.

# Očkování proti zarděnkám

- Také zarděnky v době před očkováním znamenaly velké ekonomické ztráty, komplikace pro školy a školky apod.
- Zarděnky jsou také nebezpečné u těhotných, kde existuje riziko potratu u infikovaných žen.
- Proto byly v 80. letech očkovány nejprve dívky ve 12 letech a pak i všechny dvouleté děti

# Očkování proti příušnicím

- Pro příušnice platí totéž co pro předchozí dvě choroby
- Zatímco zarděnky byly nebezpečné těhotným dámám, příušnice hrozí spíše pánům (dospělým) – riziko zánětu varlat (orchitidy), vedoucí až k neplodnosti

# Očkování „MMR“ (measles, mumps, rubella = spalničky, zarděnky, příušnice)

[www.sciencemuseum.org.uk](http://www.sciencemuseum.org.uk)



# Očkování proti chřipce

- V poslední době populárnější než dříve, vzhledem k riziku tzv. aviární chřipky (H5N1) a prasečí chřipky (H1N1)
- U chřipky je ovšem třeba počítat s rizikem antigenního driftu (drobné změny antigenní struktury) a shiftu (větší antigenní posuny). Proto očkování nezanechává trvalou imunitu a musí se každý rok obnovovat

# Očkování proti chřipce



# Očkování proti klíšťové encefalitidě

- Často žádané očkování – ovšem lidé většinou nechávají očkovat děti, ačkoli onemocnění probíhá závažněji u dospělých. Do 6 let se nedoporučuje.
- Očkuje se dvěmi dávkami zpravidla v zimním období, třetí („boosterová“) dávka následuje další zimu. Doporučuje se po třech letech přeočkovat
- Nechrání samozřejmě proti borelióze



# Další očkování



- proti meningokokové infekci
- proti pneumokokové infekci
- proti planým neštovicím
- proti různým tropickým chorobám
- proti rakovině cervixu
- proti HIV (výzkum)

# Nežádoucí účinky očkování

- Bylo by nezodpovědné tajit, že očkování může mít i **nežádoucí následky**.
- Pravda je i to, že mohou být i příčinou smrti.
- Příčinou nepříznivé reakce může být
  - **alergie** na některou složku očkovací látky (nejen na antigen, ale i na látky pomocné)
  - **podráždění imunitního systému**, zejména u osob s narušenou imunitou
  - u oslabených virů a bakterií může i **proběhnout vlastní onemocnění**, ovšem velmi slabě

# Jsou důvodem proč neočkovat?

- Díky očkování již lidé často zapomínají na dobu, kdy po ulicích chodili lidé s aktivní tuberkulózou, kteří byli hrozbou pro ostatní. Zapomínají na tělesně postižené děti po prodělané dětské obrně.
- I zdánlivě „neškodné“ nemoci, jako jsou třeba příušnice či zarděnky, hrozí komplikacemi, poškozením plodu u těhotných a podobně.

# Rizika a přínosy

- Každý zdravotnický postup přináší **riziko selhání či nežádoucích účinků**.
- Proto také existuje **velmi přísná kontrola** ze strany státu (MZd, SÚKL, hygienik...) i stavovských organizací (ČLK) a odborných společností (ČLS JEP), aby nebyly používány postupy „non lege artis“, čili v nesouladu se současnými poznatky vědeckého poznání.
- Postupy, na kterých se všechny zmíněné instituce shodnou, mají jednoznačně prokázaný **větší přínos než riziko**

# Opačný extrém

- Je ale i **opačný extrém**: někteří lidé pod tlakem reklamy vyžadují očkování, která pro ně či jejich děti nejsou vhodná
- Například u dětí do šesti let je zbytečné zatěžovat jejich organismus očkováním proti klíšťové encefalitidě. Takové děti jsou neustále prohlíženy rodiči, takže riziko, že by klíště bylo dost dlouho prisáté, je zanedbatelné. U malých dětí má onemocnění zpravidla navíc lehký průběh.
- Věřme autoritám, pokud něco doporučují nebo nedoporučují, většinou k tomu mají dobré důvody.

# „Mám právo nenechat své dítě naočkovat“.

- **Není to pravda.** Dítě není majetkem matky. Tak jako matka nemá právo dítě týrat nebo ho jen tak přestat posílat do školy, tak také nemá právo ohrozit jeho zdraví tím, že ho bezdůvodně nenechá očkovat.
- **Není to pravda dvojnásob.** Nenaočkovat dítě znamená ohrozit třeba i cizí dítě, které nemohlo být naočkováno ze zdravotních důvodů. Čím menší je proočkovanosť populace, tím větší je riziko vzniku epidemického výskytu nemoci.

# Další aktuální informace o očkování...

- ...naleznete na stránkách

[www.vakciny.net](http://www.vakciny.net)

