

Mikrobiologický ústav uvádí

# NA STOPĚ PACHATELE



Díl osmý:

Acidorezistentní pachatelé

# 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.*



# Přehled jednotlivých částí

Klinická charakteristika acidorezistentních bakterií

Specifické vlastnosti acidorezistentních bakterií

Diagnostika acidorezistentních bakterií

*Bonusový materiál: Rickettsie a chlamydie*

# Klinická charakteristika acidorezistentních bakterií

- **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**.

# 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.

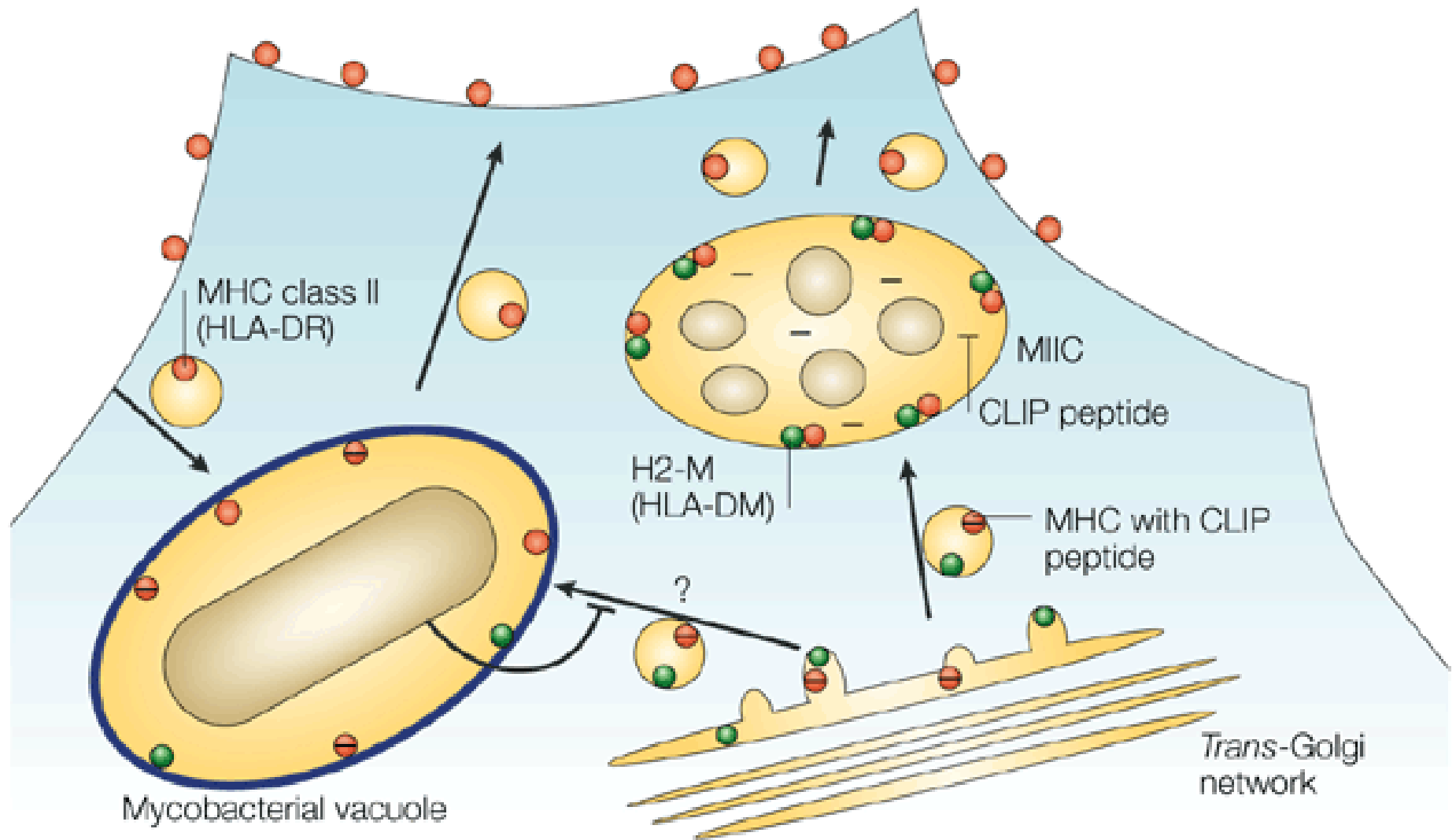
"Nemocný muž se dnes pohyboval po Slovanské třídě, v blízkosti křižovatky s Liliovou ulicí," uvedl mluvčí plzeňské policie Jaroslav Ibehej.

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





# Tuberkulóza

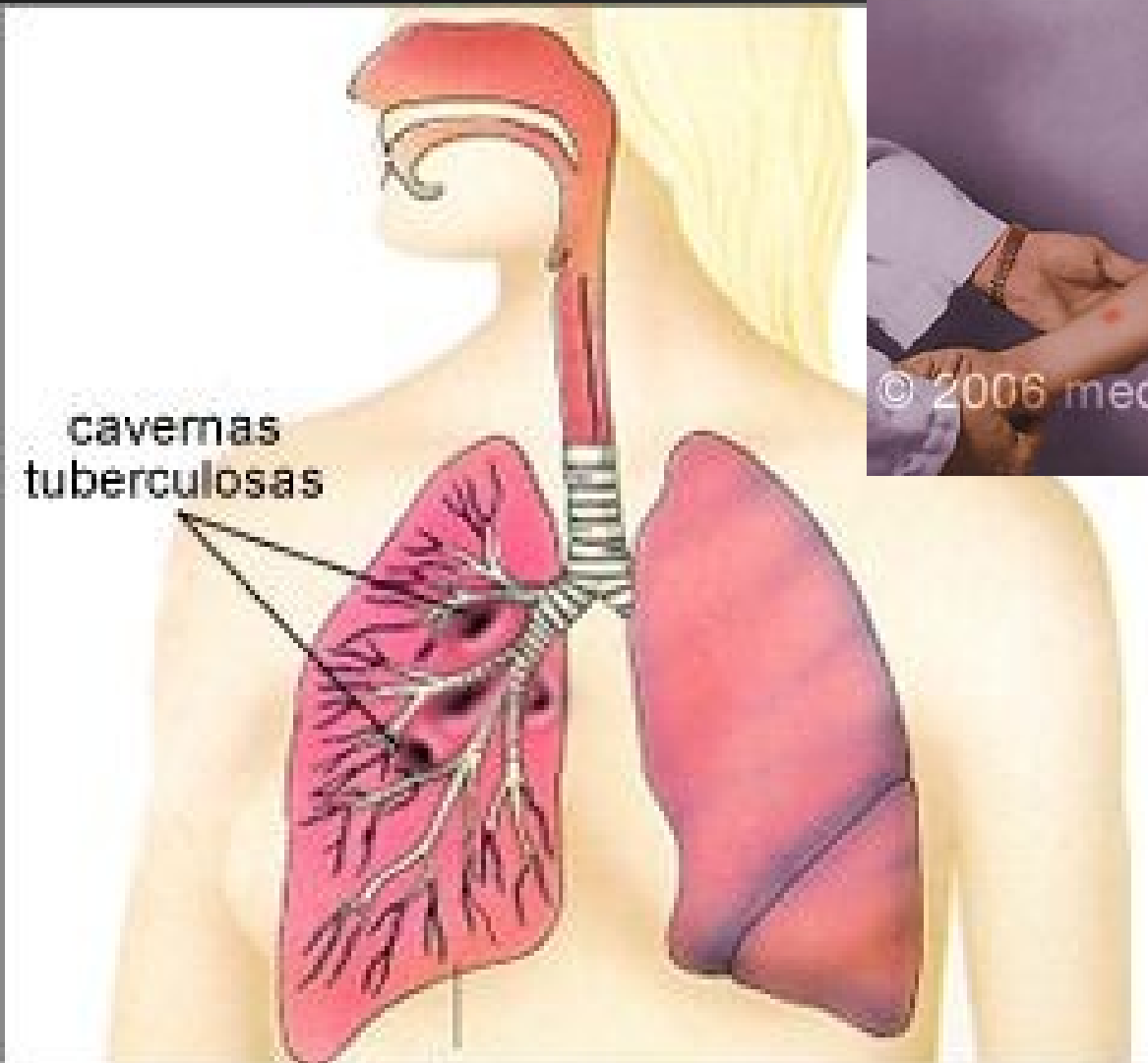
- Při prvotním styku s infekcí dojde ke vzniku tzv. **primárního komplexu**. Je to ložisko (obvykle v plicích) a k němu přiléhající mízní uzlina.
- Při další infekci vzniká tzv. **postprimární TBC**, která je horší. Zpravidla vznikne granulomatózní útvar, který později podléhá kaseifikaci („zesýrovatění“) 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

# Intracelulární mikroby

- *Mycobacterium* je sice často přítomno uvnitř buněk, není však obligátně intracelulárním patogenem. Tím jsou naopak viry, a také chlamydie a rickettsie. Přečtěte si o nich v bonusovém materiálu!



# Tuberculóza



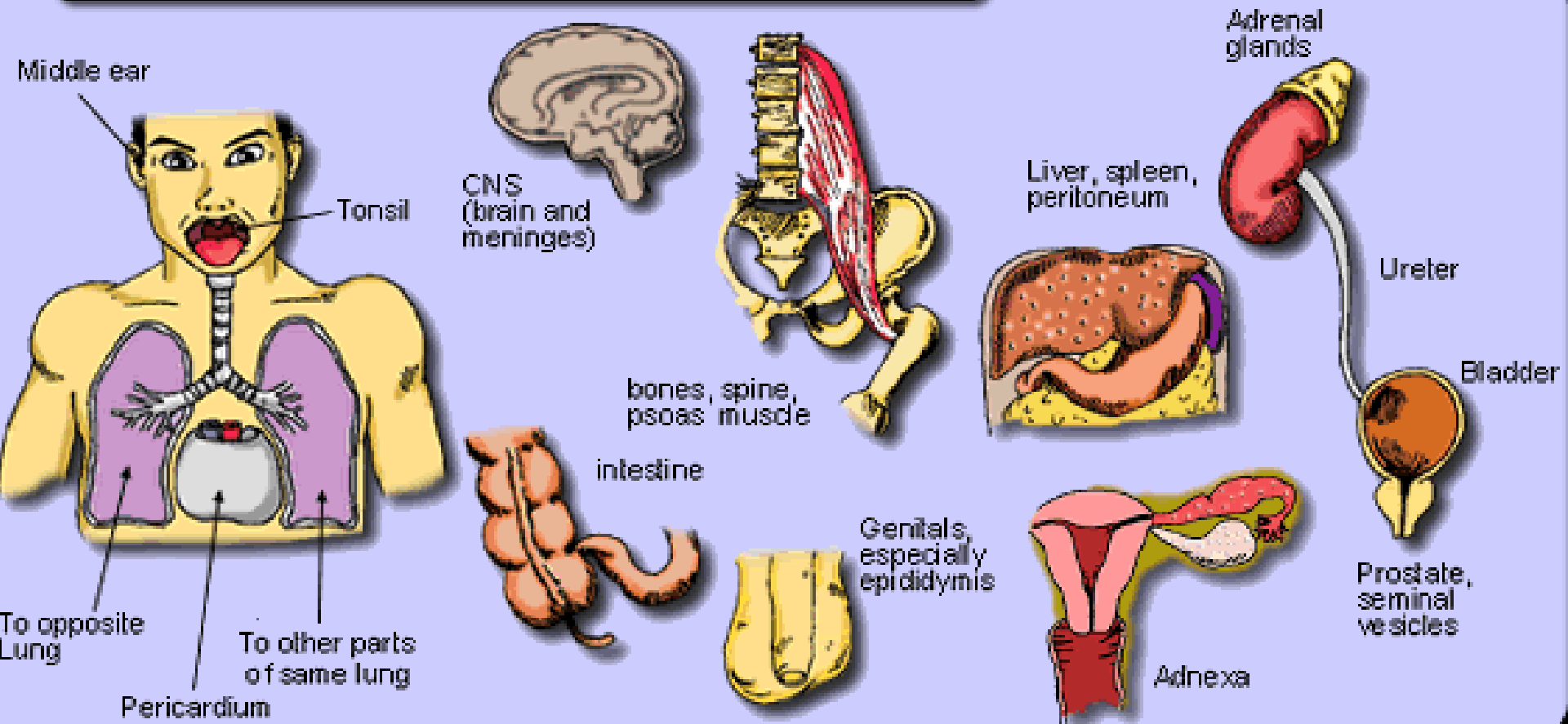
<http://www.stockmedicalart.com>

# Není jen plicní forma TBC

sitemaker.umich.edu (2x)

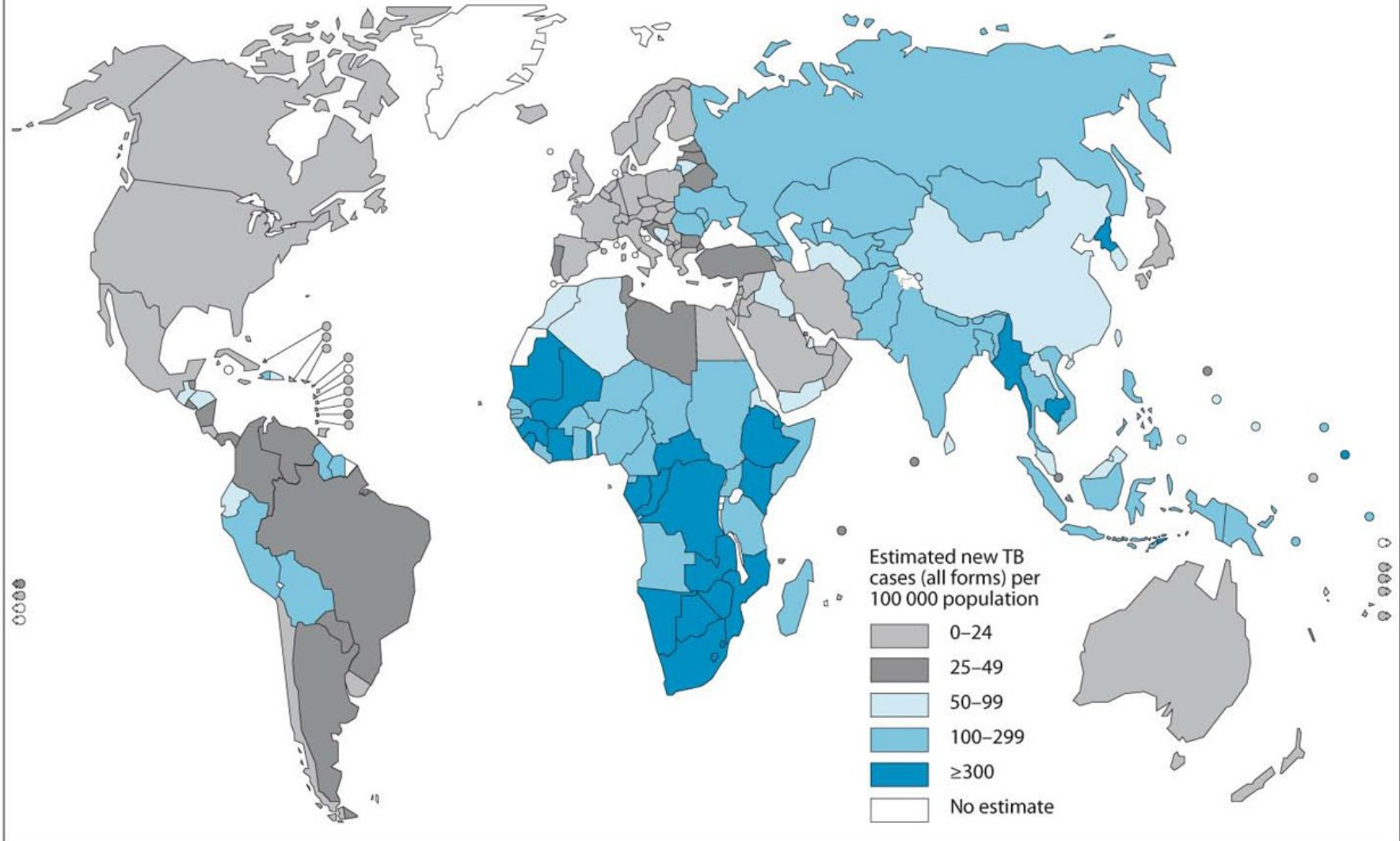


## Tuberculosis Affects Many Parts of the Body



# Estimated TB incidence rates, by country, 2009

<http://www.healthytravelblog.com/2010/12/08/who-announces-milestone-test-for-tuberculosis/>



Source: *Global Tuberculosis Control 2010*. WHO, 2010.



© WHO 2010. All rights reserved.

# TBC ve světě

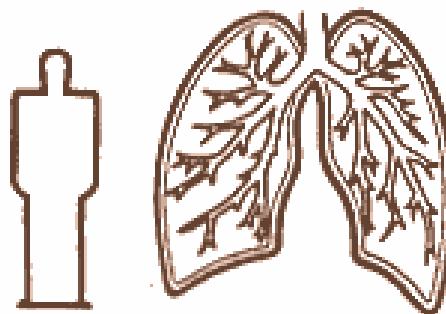
# Ještě jednou TBC

<http://www.lung.ca>

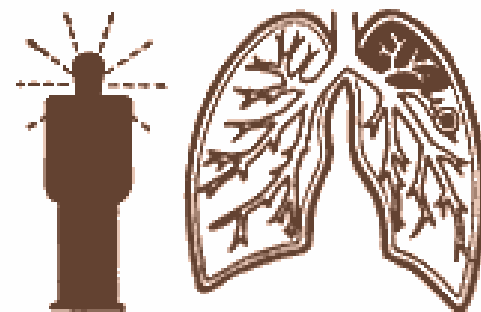
<http://www.cbc.ca>



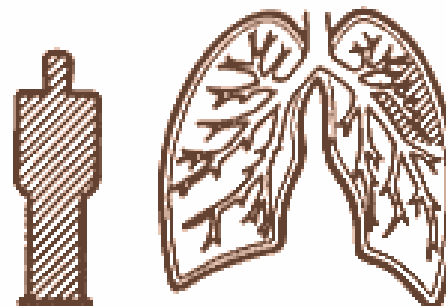
## Tuberculosis Develops by Stages



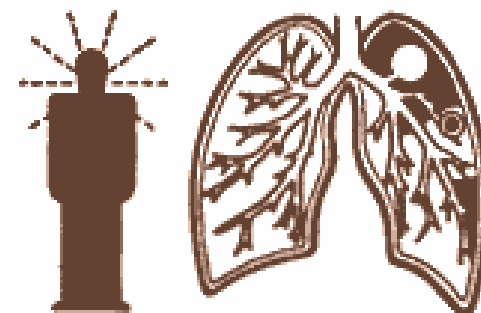
Every person is born with healthy lungs



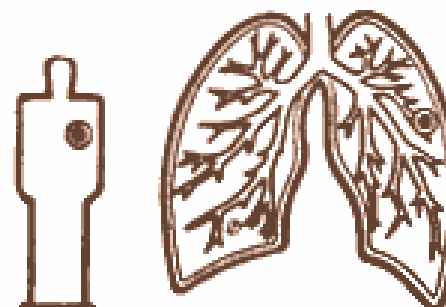
If later a person becomes infected again, the serious disease tuberculosis may begin. The germs that escape from the lungs are likely to infect others.



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



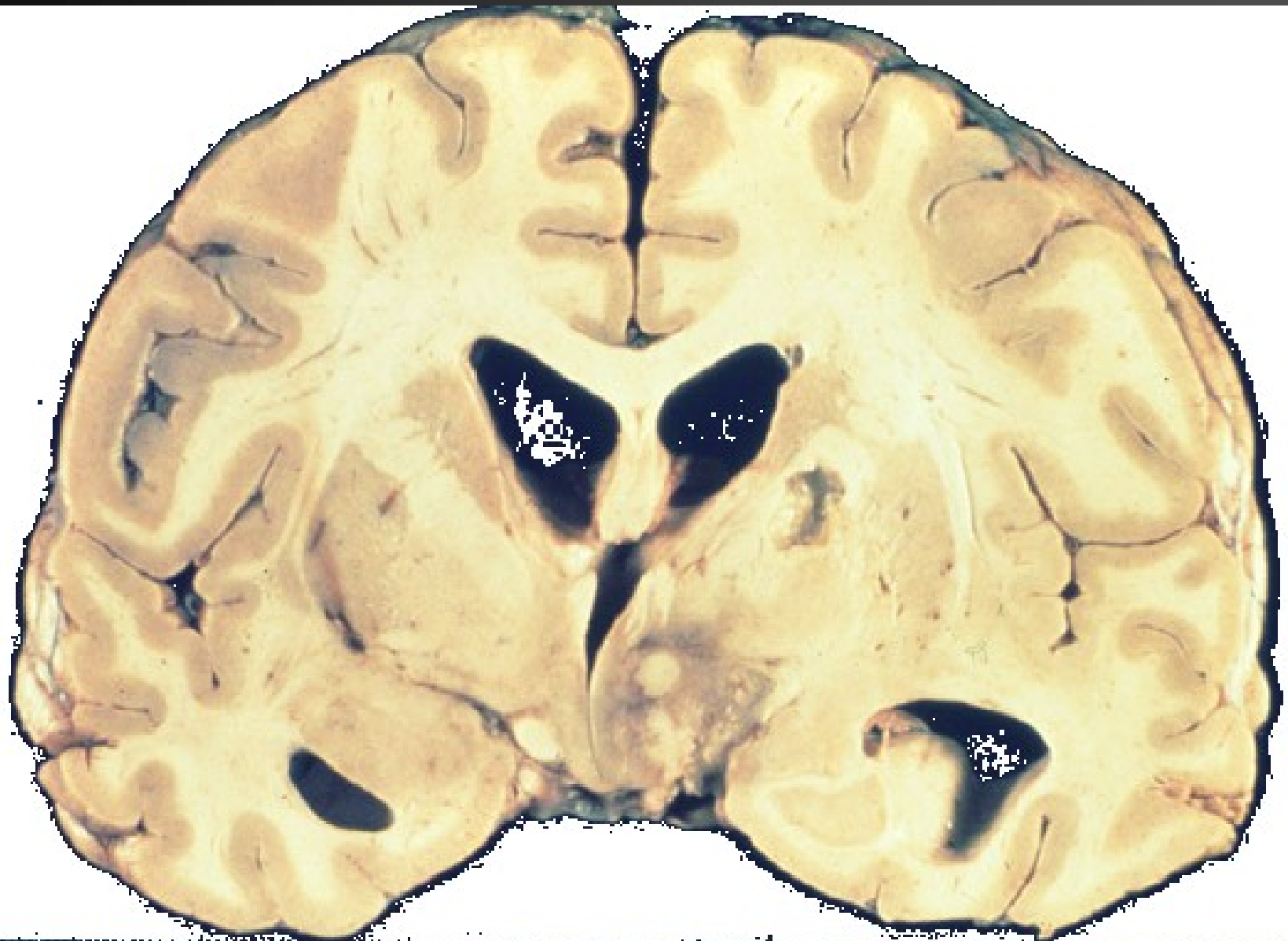
If tuberculosis is not discovered early, the disease spreads. A hole (cavity) may form in the lung which is an incubator of germs that escape and menace everybody who comes in contact with the sick person.



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.

# Tuberkulom mozku

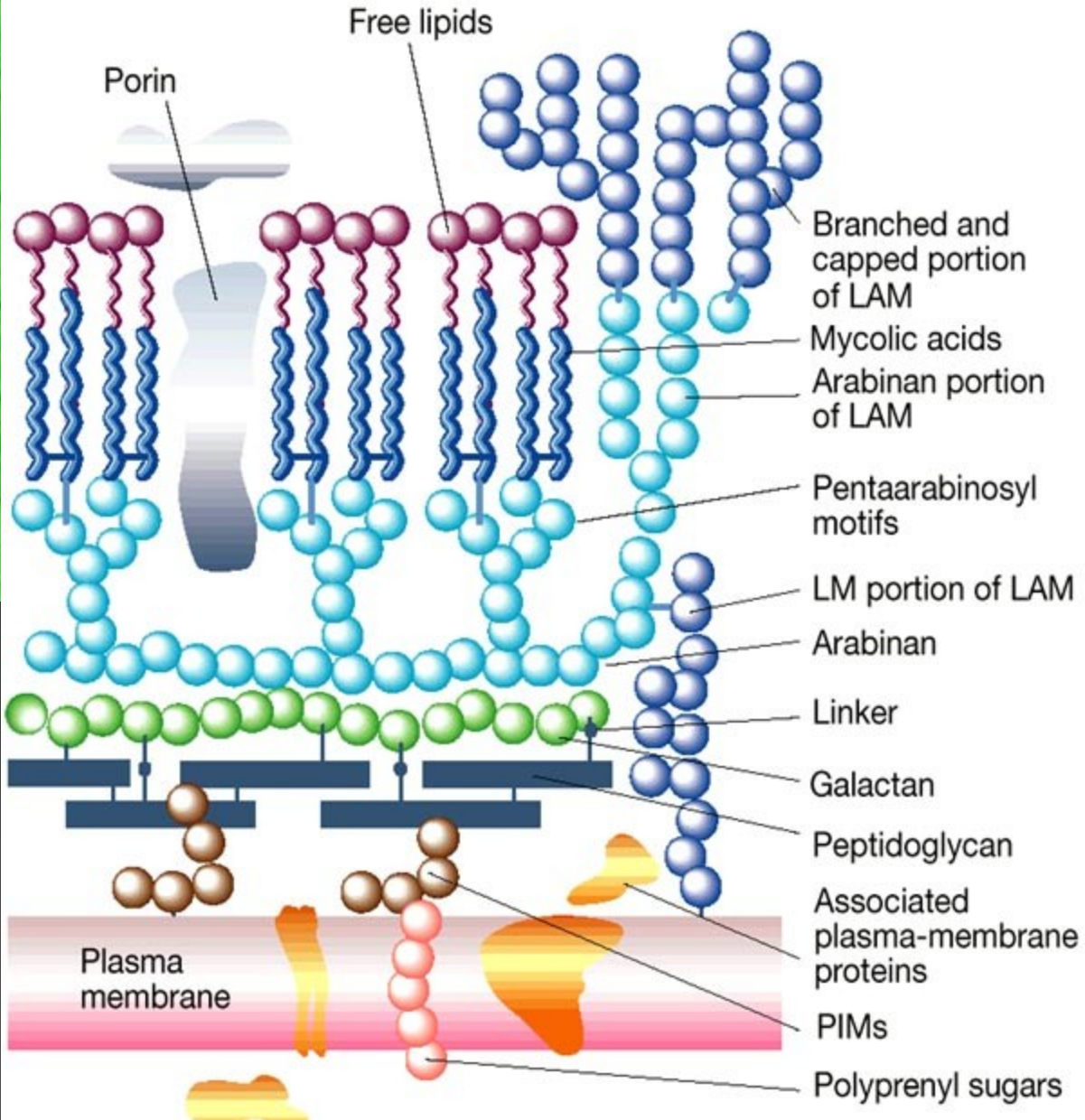
<http://pathology.mc.duke.edu>



# 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**.





# Buněčná stěna mykobakterií

# Zmínky o TBC ve známých písničkách...

...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](http://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...

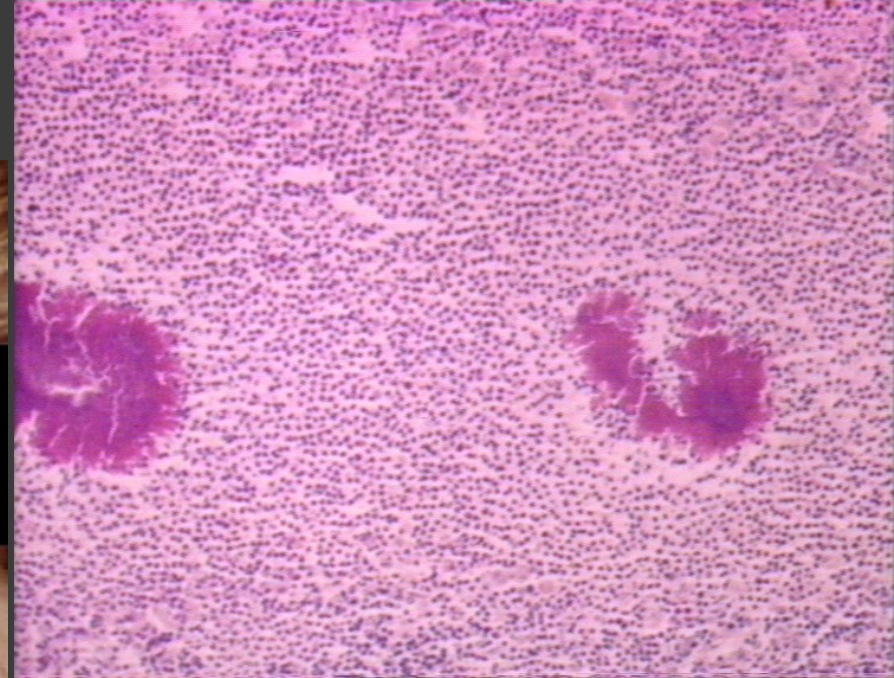
# ...jde o aktinomykózu



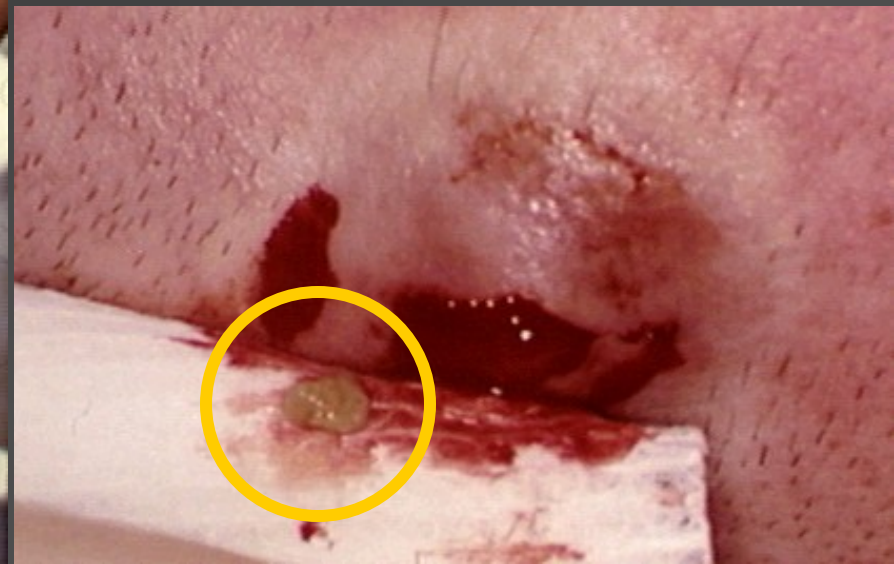
- tedy že viníkem je *Actinomyces* sp.
- Aktinomycety jsou vláknité bakterie, v podstatě grampozitivní, ale barví se Gramem špatně, protože jejich buněčná stěna je hodně hydrofobní a obsahuje hodně mykolových kyselin
- Aktinomycety se běžně vyskytují v ústní dutině zdravých osob. Odtud se za různých okolností mohou dostat do měkkých tkání krku, tváře či hrudníku. Jsou to anaerobní bakterie, či přinejmenším nejlépe rostou za anaerobních podmínek
- Podobné aktinomycetám jsou nokardie, které jsou naopak striktně aerobní. Jinak však mají hodně podobné vlastnosti.

<https://en.wikipedia.org>

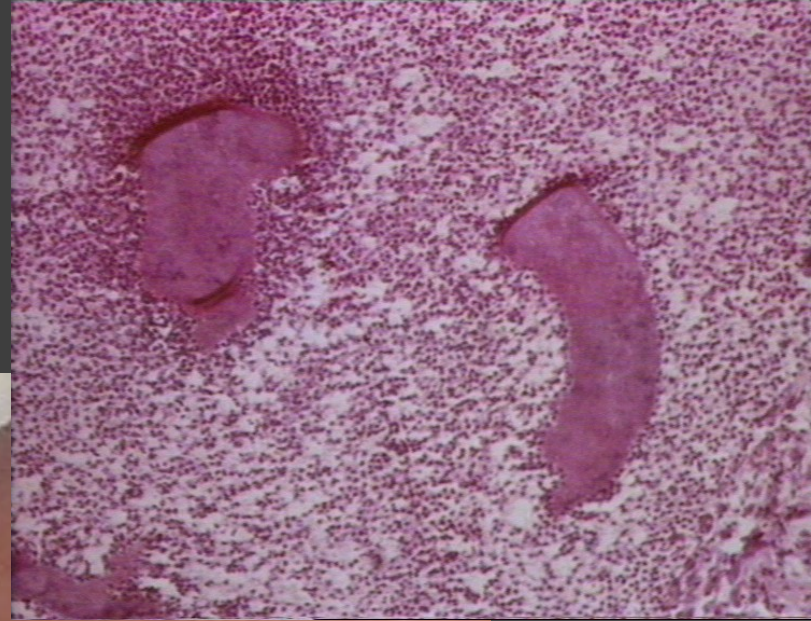
# Aktinomykóza



pathmicro.med.sc.edu (3x)



# Nokardióza



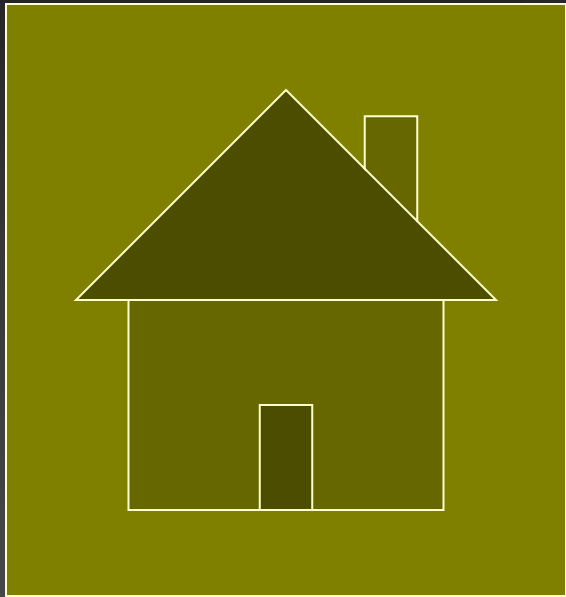
# Nokardiová pneumonie se sepsí



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



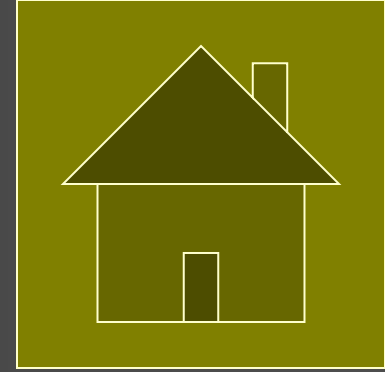
Specifické  
vlastnosti  
acidorezistentních  
bakterií

# 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?



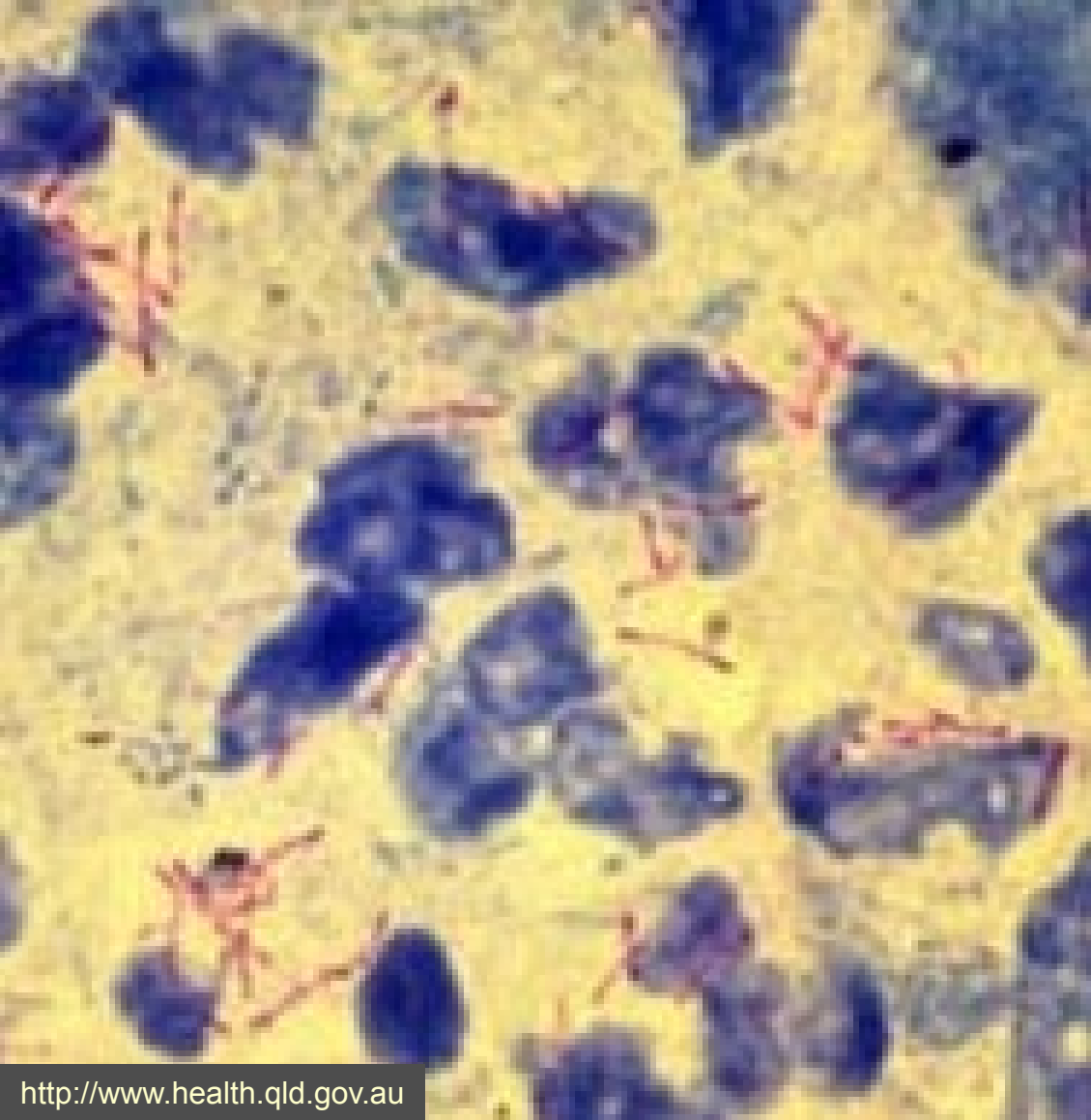
- Pokud klinik pošle vzorek (sputum, moč, hnis či cokoli jiného) „na bakteriologickou kultivaci“, nemůže očekávat, že vyšetření odhalí případnou přítomnost mykobakterií
- Chce-li klinik zjistit, zda má pacient TBC, musí **poslat vzorek zvlášť a na průvodce výrazně označit, že má být vyšetřen kultivačně či pomocí PCR na tuberkulózu.** V tom případě laboratoř provede příslušné procedury

# Diagnostika acidorezistentních bakterií

# 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.
- **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

# Defilé zločinců: *Mycobacterium tuberculosis*

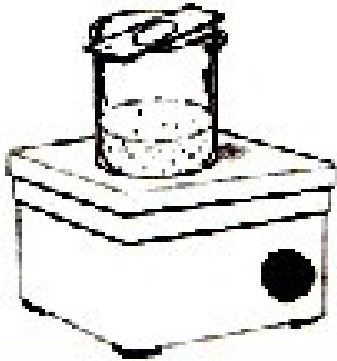


# Postup barvení dle Ziehl-Neelsena

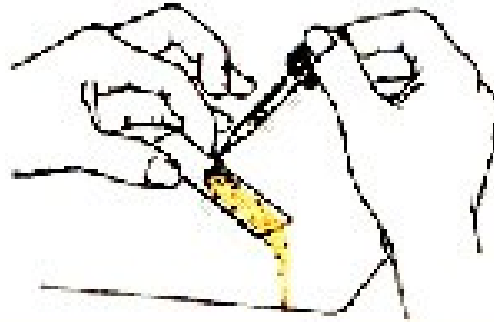
- **V prvním kroku** barvíme karbolfuchsinem (Gabbetem) za horka až do výstupu par. Bez zahřívání by mykobakteria nešlo obarvit, leda při použití koncentrovanějšího karbolfuchsinu (modifikace podle Kinyouna).
- **V druhém kroku** odbarvujeme cca 15 s „kyselým alkoholem“, což je směs alkoholu s minerální kyselinou, nejčastěji kyselinou chlorovodíkovou, poté opláchneme vodou
- **Ve třetím kroku** dobarvujeme pozadí, tj. vše, co jsme ve druhém kroku odbarvili. Dobarvujeme cca 30 s **malachitovou zelení** nebo **metylénovou modří**. Opět opláchneme, osušíme a pozorujeme imerzí.
- **Výsledkem** jsou červené acidorezistentní tyčinky na **modrém** nebo **zeleném** pozadí

# Ziehl-Neelsenovo barvení

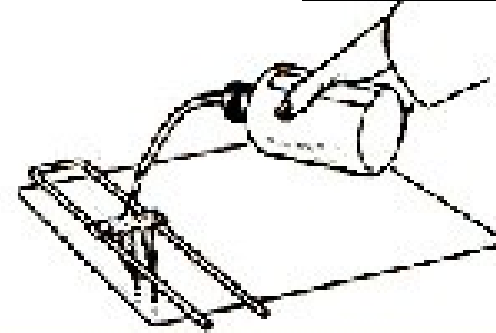
(varianta  
s vodní lázní)



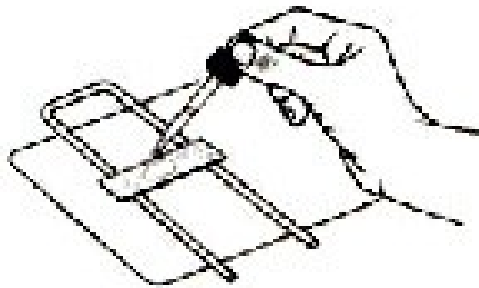
**1** Cover smear with carbolfuchsin. Steam over boiling water for 8 minutes. Add additional stain if stain boils off.



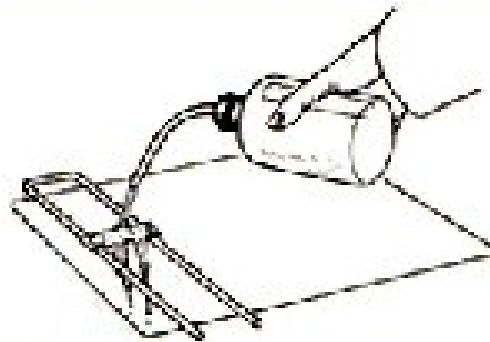
**2** After slide has cooled decolorize with acid-alcohol for 15 to 20 seconds.



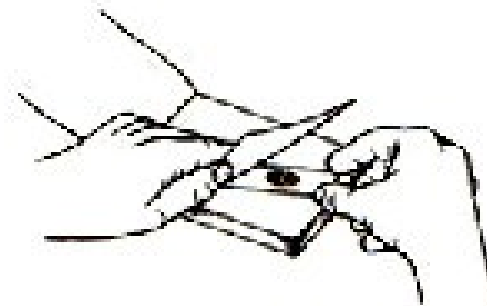
**3** Stop decolorization action of acid-rinsing briefly with water.



**4** Counterstain with methylene blue for 30 seconds.



**5** Rinse briefly with water to remove excess methylene blue.



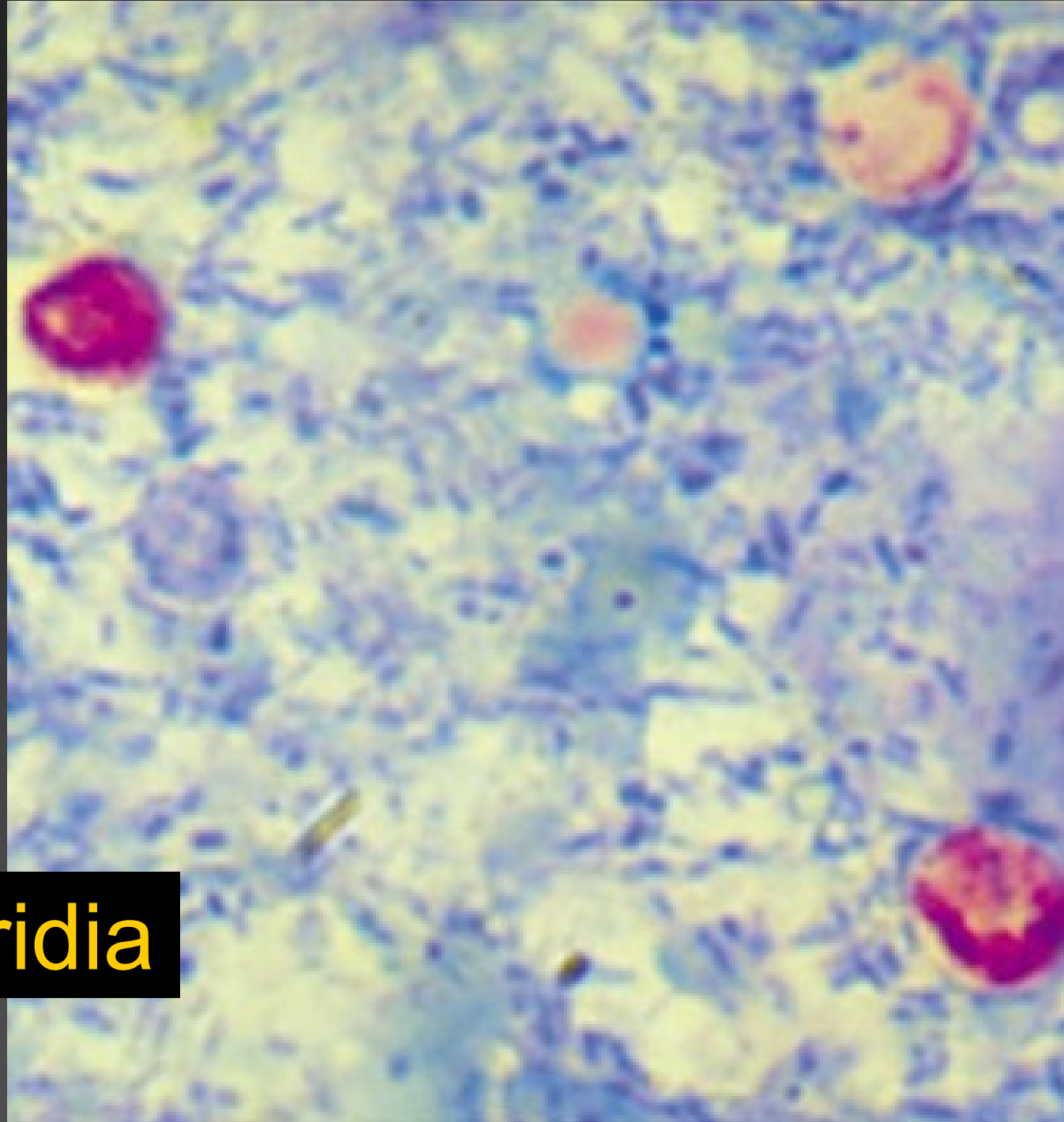
**6** Blot dry with bibulous paper. Examine directly under oil immersion.

Ziehl-Neelsen acid-fast staining procedure

# Ziehl-Neelsenovo barvení



Zajímavostí je,  
že Ziehl-  
Neelsenovo  
barvení lze  
použít i pro  
skupinu  
parazitů, tzv.  
střevní  
kokcidie  
(kryptosporidia  
a cyklospory)



## Kryptosporidia



# Kultivace mykobakterií

- Před kultivací musí být provedeno moření
- Používáme tekutou půdu Šulovu či Baničovu a vaječné půdy Ogawovu či Löwenstein-Jenssenovu. Vaječné půdy jsou tuhé vzhledem ke koagulaci vaječného bílku – neobsahují agar
- I pevné půdy se nalévají do zkumavek a uzavírají zátkou. Není to jen kvůli ohrožení personálu, ale především kvůli vyschnutí půdy.
- Výsledky se odečítají po 1 (kontrola kontaminace) 3, 6 a pro jistotu i 9 týdnech kultivace. (Pozitivní výsledky se obvykle nacházejí po šesti týdnech)

# Vzhled kolonií mykobakterií

<http://www.stockmedicalart.com/>



# 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. 😊)

*(Poznámka:*

*Bordel případně může být i bílý)*



# Testy antituberkulotické citlivosti (nikoli antibiotické!)

- 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
- Nelze používat difúzní diskové testy
- Antituberkulotika proto přidáváme přímo do (pevné) kultivační půdy. Přidáme kontrolu růstu.
- **Mykobakterium roste → je rezistentní**
- **Mykobakterium neroste → je citlivé**

# Přehled běžně užívaných antituberkulotik

Antibiotikum	Zkratka
Isoniazid	H, INH
<b>Ethambutol</b>	<b>E</b>
<b>Rifampicin</b>	<b>R</b>
Pyrazinamid	Z
<b>Streptomycin</b>	<b>S, STM</b>

Tuberkulózní játra  
pokusného morčete

Věnovala dr. Jana Svobodová a  
dr. Lev Mezenský



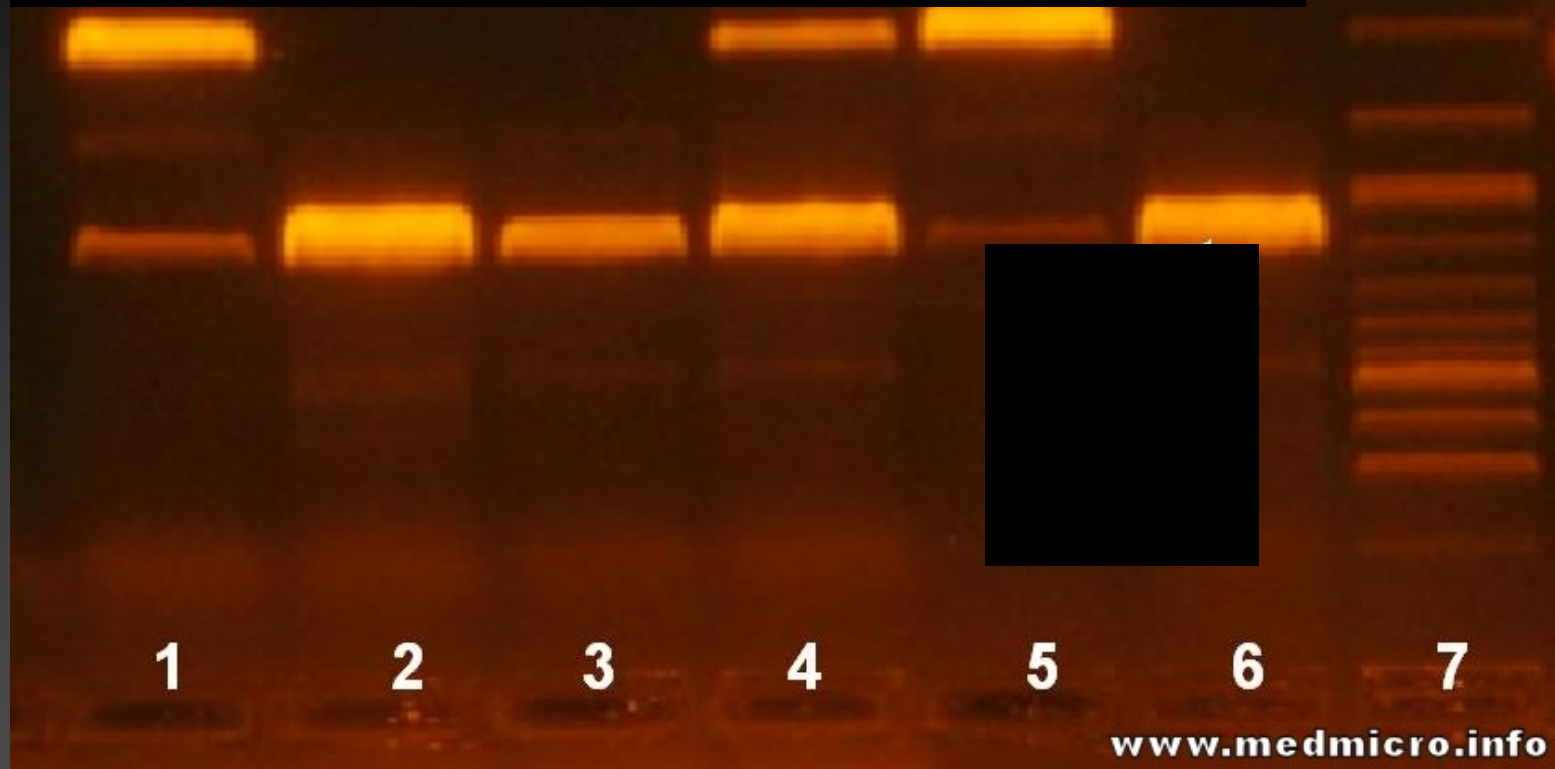
# PCR TBC

1, 2, 3, 4 = pacienti číslo 1, 2, . 4

5 = pozitivní kontrola 6 = negativní kontrola

7 = ladder (žebříček)

horní řádek = proužek vzorku, dolní = IC



PCR je metodou, která se v diagnostice TBC používá více než v diagnostice jiných bakterií. Je to proto, že diagnostiku výrazně urychluje, přičemž u TBC příliš nehrozí riziko kontaminace z prostředí.

# PCR kit pro diagnostiku TBC



# Nepřímý průkaz TBC

- Nejdůležitějším typem imunity u TBC je buněčná imunita. Tvorba **protilátek** se vyskytuje, ale měřitelná množství jsou přítomna jen u části případů. Pozitivní nález protilátek lze považovat za známku infekce, zato však negativní nález má minimální informační hodnotu.
- **Buněčnou imunitu** lze testovat
  - **kožním (tuberkulinovým) testem**, zvláště po vakcinaci
  - **testem uvolňování IFN-gama** (reakce pacientových buněk na antigenní výzvu)



# Kožní testy (Mantoux)

- Používá se pro **ověření účinnosti očkování**, ale také k průkazu případné latentní infekce
- Na testy je potřeba **celý pacient**, nejde tedy o laboratorní test. Test provádějí dermatovenerologická či jiná specializovaná pracoviště
- **Pozitivní** jsou tyto testy v případě, že je aktivována buněčná imunita; jde vlastně o jistý typ opožděné alergie

# Test uvolnění interferonu gama (Quantiferon<sup>©</sup> TB-GOLD)

- Moderní možností k ověření buněčné imunity je vyšetření **indukovaného uvolňování interferonu gama**, v praxi se používá prakticky výhradně komerčně dostupný test Quantiferon TB-GOLD, proto budeme dále hovořit jen o něm
- Bylo prokázáno, že při tuberkulóze, a to i latentní, dochází k tomu, že **tuberkulózní antigeny aktivují T-lymfocyty** a ty tvoří velká množství interferonu gama
- Podobně lze tyto T-lymfocyty aktivovat nespecificky např. takzvaným **mitogenem**, ten se proto používá jako pozitivní kontrola

# Quantiferon – tři zkumavky

- Odebírá se nesrážlivá (heparinizovaná) krev do tří zkumavek (potřebujeme lymfocyty!)
- první zkumavka obsahuje **mitogen (MIT)** – zde by mělo za normálních okolností **vždy** dojít ke stimulaci tvorby interferonu gama
- druhá zkumavka obsahuje **antigeny TBC (TB)** – zde by mělo dojít ke stimulaci tvorby interferonu gama **pouze u infekce TBC**
- třetí zkumavka **neobsahuje nic (NIL)** – zde by za normálních okolností **nemělo docházet** ke stimulaci tvorby interferonu gama

# Quantiferon – hodnocení

- Za **pozitivní** lze považovat výsledek, kdy T-lymfocyty reagují na stimulaci antigenem mykobakteria, avšak ve zkumavce neobsahující nic nedochází k tvorbě interferonu
- Za **negativní** lze považovat výsledek, kdy T-lymfocyty reagují na stimulaci mitogenem, ale nereagují na stimulaci antigenem mykobakteria
- **Neurčitý výsledek** se objeví (1) v případě, že T-lymfocyty nejsou aktivovány ani mitogenem, nebo naopak (2) se tvorba interferonu objeví i ve zkumavce, kde nic nebylo

# Příklad hodnocení\*

\*může se lišit u jednotlivých typů testu

<b>NIL [IU/ml]</b>	<b>TB minus NIL [IU/ml]</b>	<b>MIT minus NIL [IU/ml]</b>	<b>Výsledné hodnocení testu</b>	<b>přítomnost infekce <i>M. tuberculosis</i></b>
<b>≤ 8,0</b>	<b>&lt; 0,35</b>	<b>≥ 0,5</b>	Negativní	nepravděpodobná
	<b>≥ 0,35</b> a < 25% hodnoty NIL	<b>≥ 0,5</b>		
	<b>≥ 0,35 a ≥ 25% hodnoty NIL</b>	<b>libovolná hodnota</b>	Pozitivní	pravděpodobná
	<b>&lt; 0,35</b>	<b>&lt; 0,5</b>	Neurčitý	nelze určit
	<b>≥ 0,35 a &lt; 25% hodnoty NIL</b>	<b>&lt; 0,5</b>		
<b>&gt; 8,0</b>	<b>libovolná hodnota</b>	<b>libovolná hodnota</b>		

# Quantiferon – zásady odběru

- uchovávat prázdné odběrové zkumavky důsledně při **4–25°C**
- odebrat **správný objem krve** (3 x 1 ml)
- po odběru opakovaným obrácením zkumavky **dostat do kontaktu vzorek krve s lyofilizovanými antigeny** přítomnými na vnitřním povrchu zkumavky
- zkumavky **po odběru uchovávat při teplotě 17–27 °C**
- vzorek dopravit do laboratoře k dalšímu zpracování co nejdříve, **nejpozději 16 hodin po odběru.**

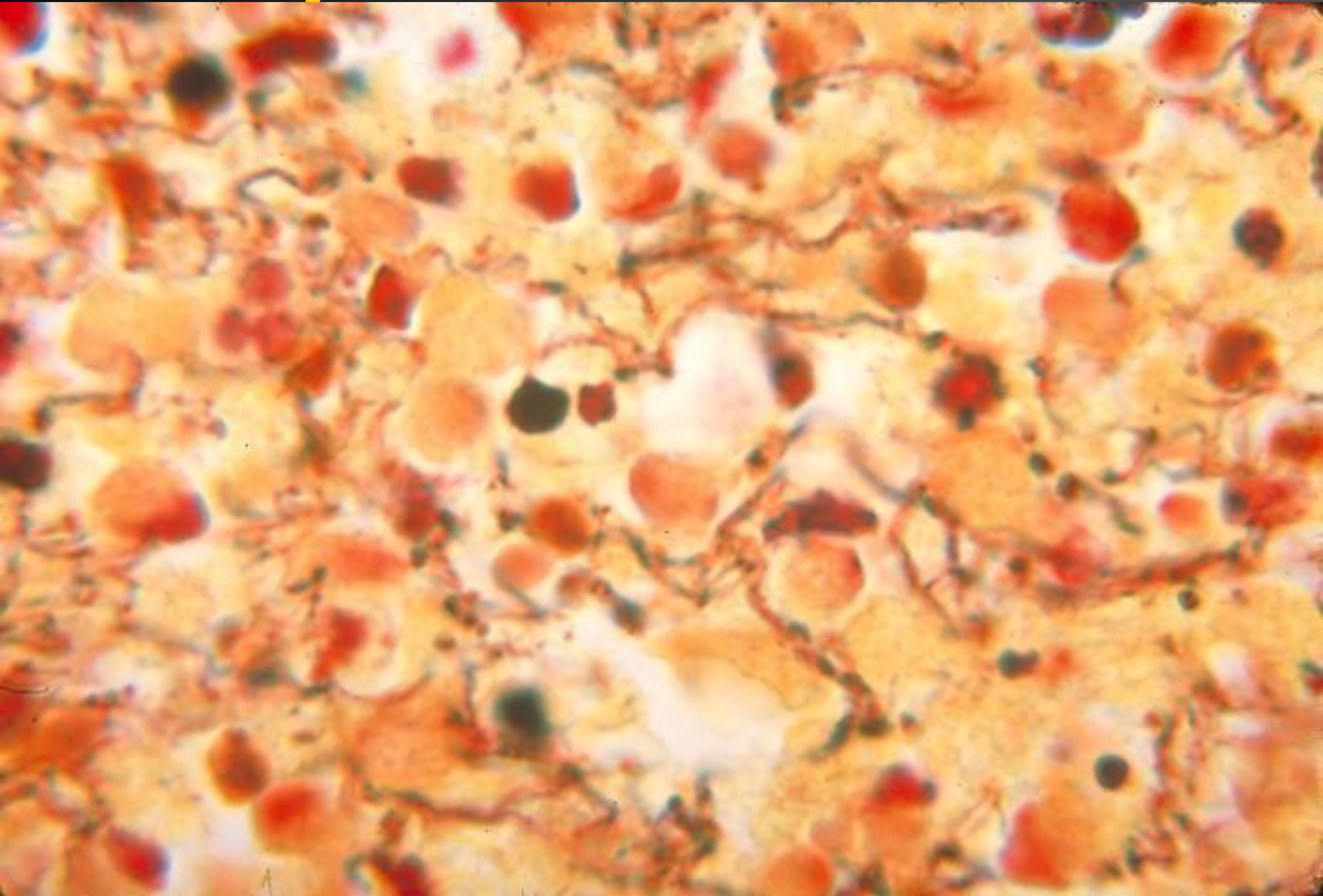
# Mikroskopie nokardií a aktinomycet

<http://filebox.vt.edu>

- Částečně rezistentní aktinomycety a nokardie se dle Grama barví, i když špatně. Jsou také pleomorfní (různotvaré).
- Obě jsou typické **větvenými vlákny**, která se barví **grampozitivně**, ačkoli některé části vláken se mohou jevit gramnegativně nebo mohou zůstat zcela nezbarvené
- Někdy se v mikroskopii také mohou objevit krátké (kokoidní) formy

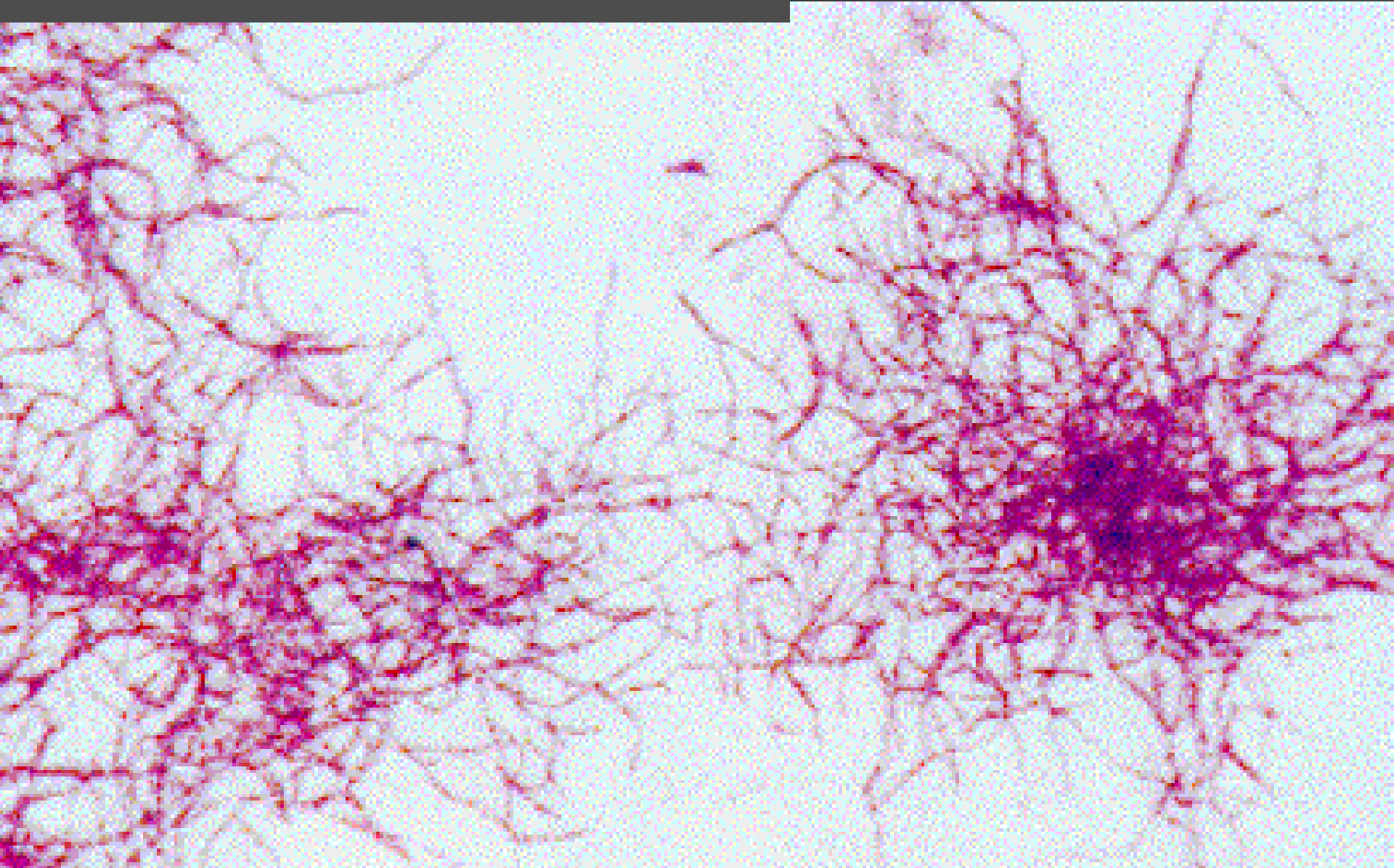
# *Actinomyces israeli*

pathmicro.med.sc.edu

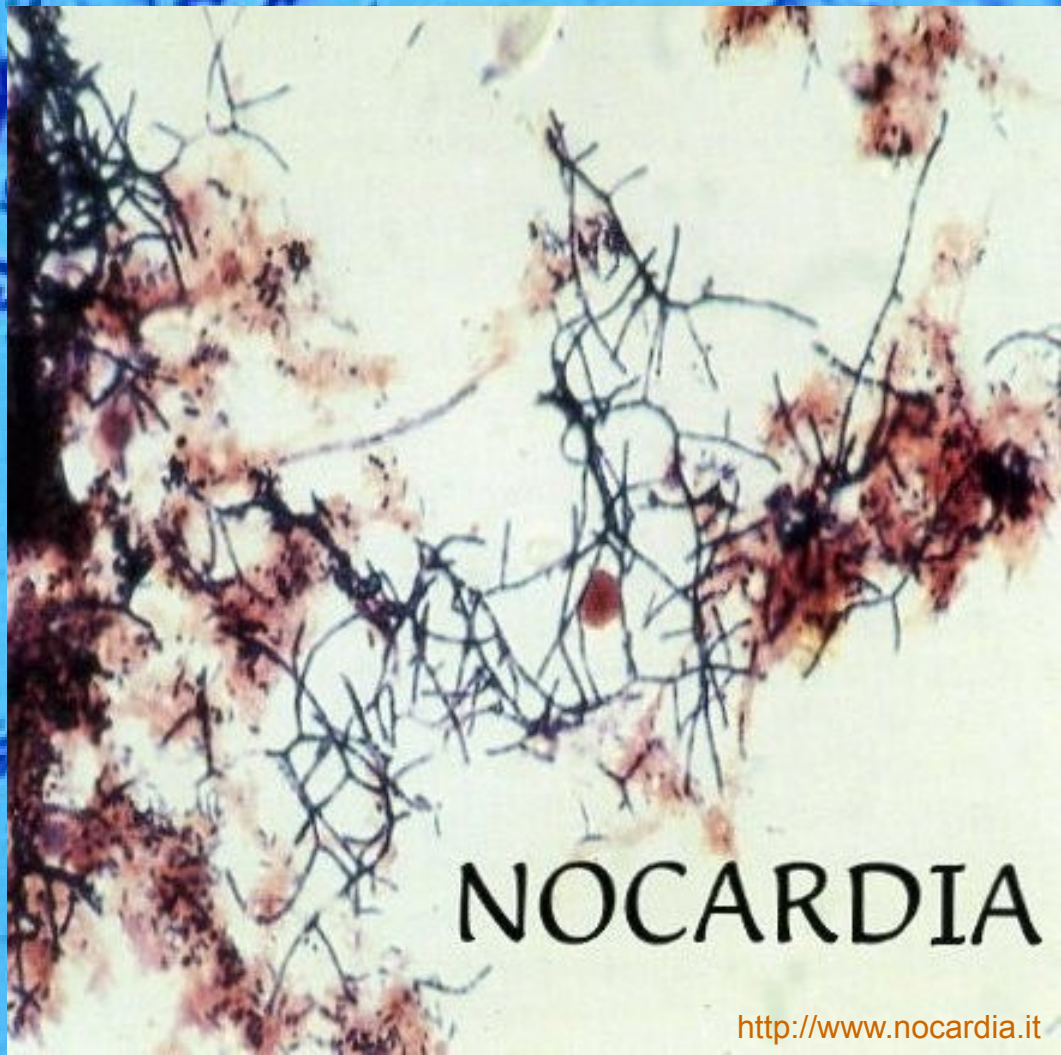
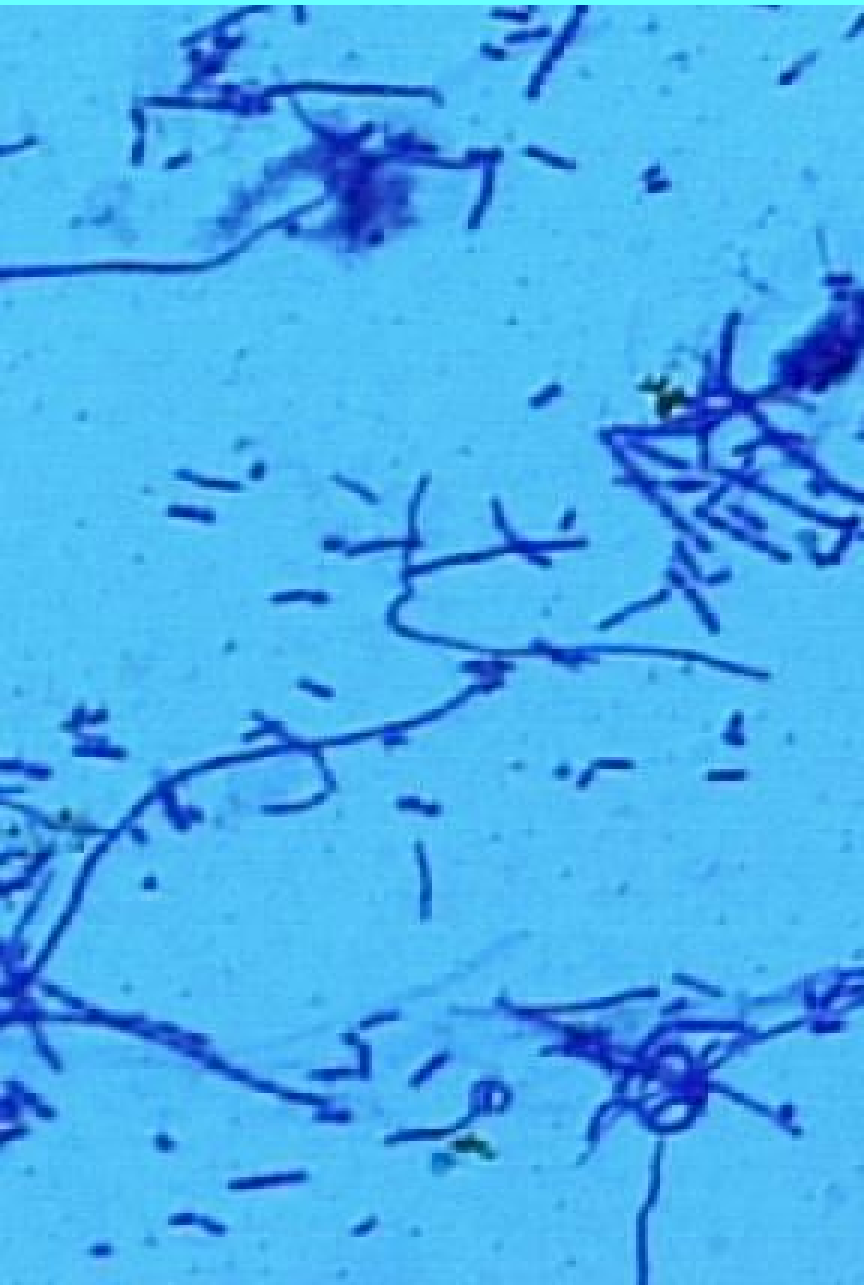




# *Nocardia asteroides*



# *Nocardia asteroides*

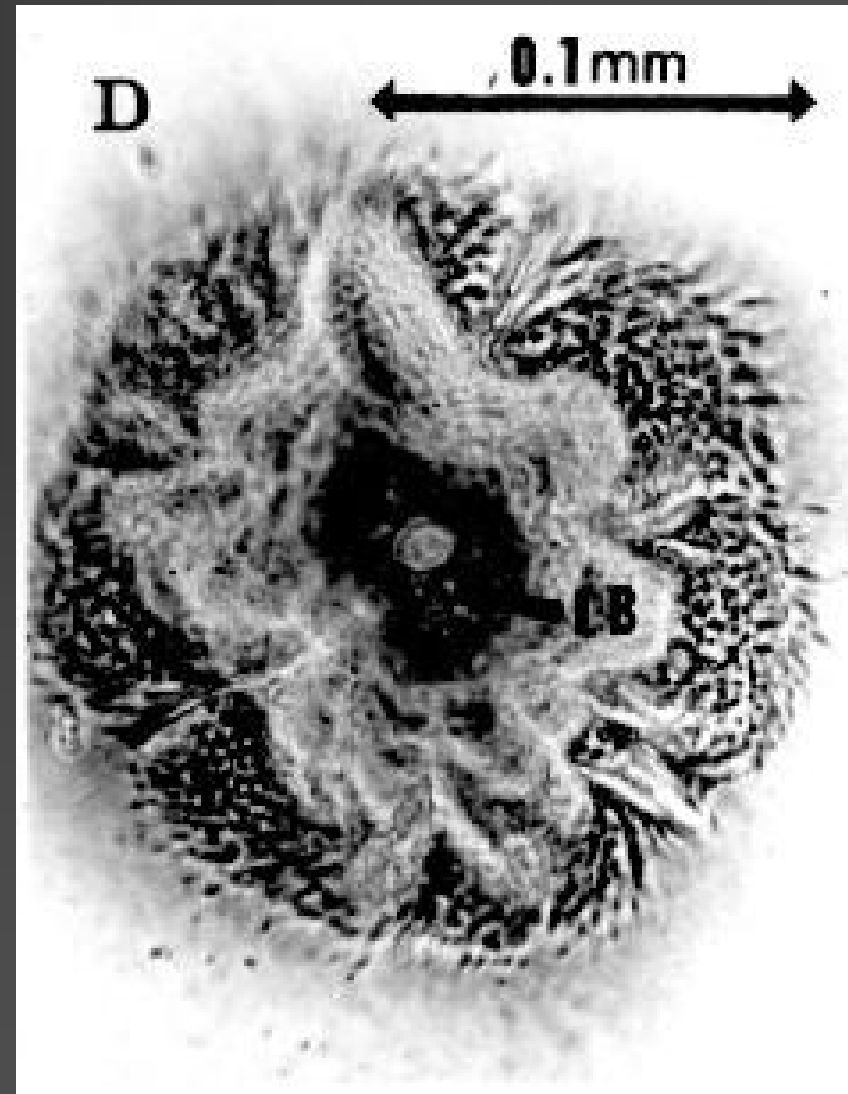


**NOCARDIA**

# Kultivace nokardií a aktinomycet

<http://filebox.vt.edu>

- I když jsou oba rody v mnohém podobné, jedno se liší: nokardie jsou striktně aerobní, aktinomycety rostou za anaerobních podmínek

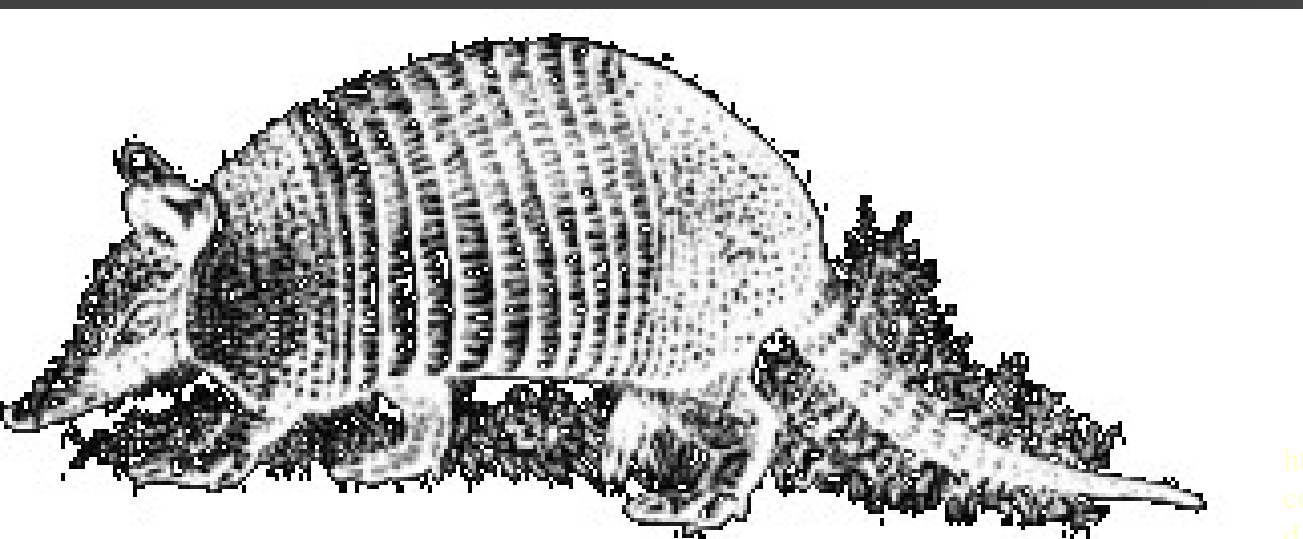


# Citlivost nokardií a aktinomycet na antibiotika

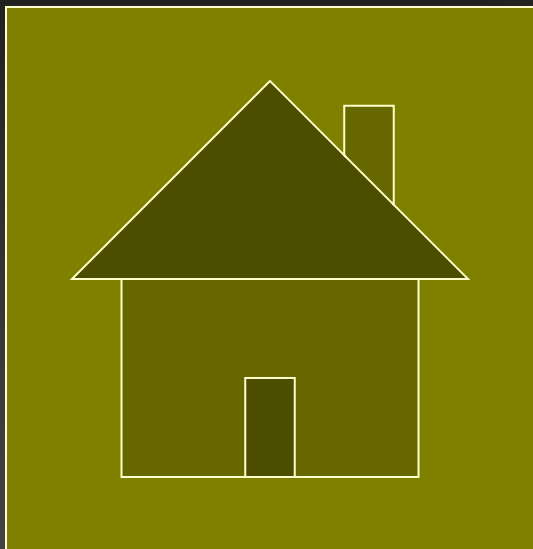
- **Antibiotická citlivost** se na rozdíl od mykobakterií dá u nokardií a aktinomycet stanovit difusním diskovým testem. Musíme ale počítat s tím, že rostou pomalu a špatně.
- U **nokardiózy** se v léčbě používá ko-trimoxazol, případně ampicilin či makrolidy
- U **aktinomykózy** se používá penicilin, popřípadě doxycyklin a další antibiotika

# Diagnostika lepry leprominovým testem

- Je jedno zvíře. Jmenuje se **pásovec devítipásý (anglicky nine banded armadillo)**.
- Je nezbytný při výrobě **leprominu**.
- Tato látka je používána v **leprominovém testu**, který je obdobou tuberkulinového testu u TBC.



Logo jednoho kongresu o TBC



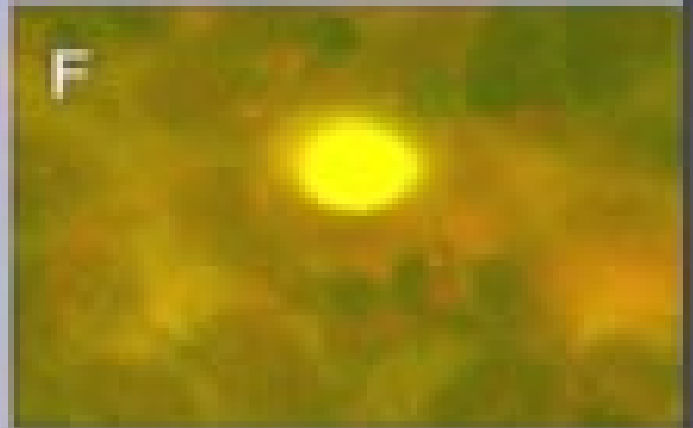
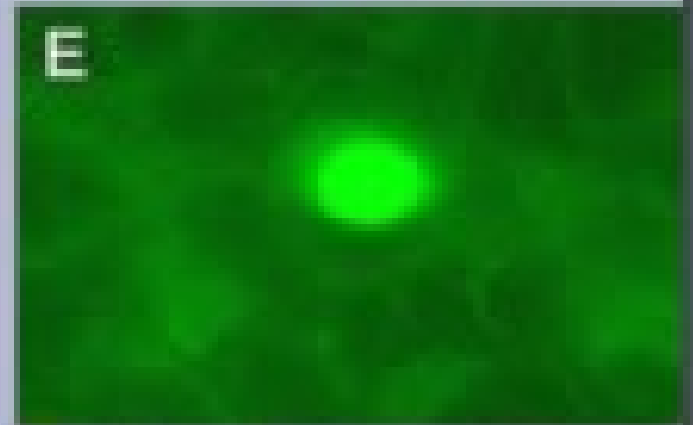
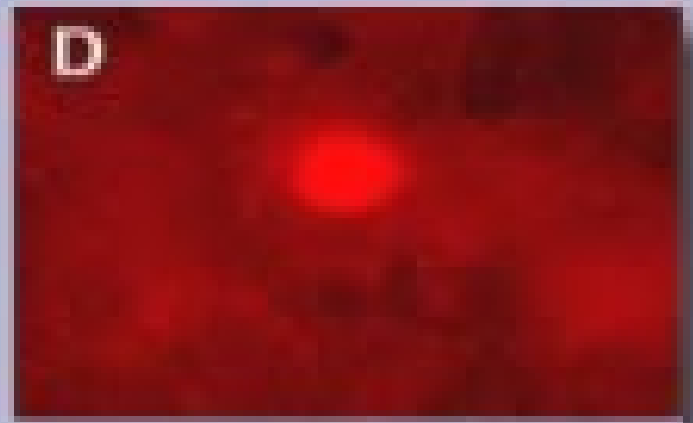
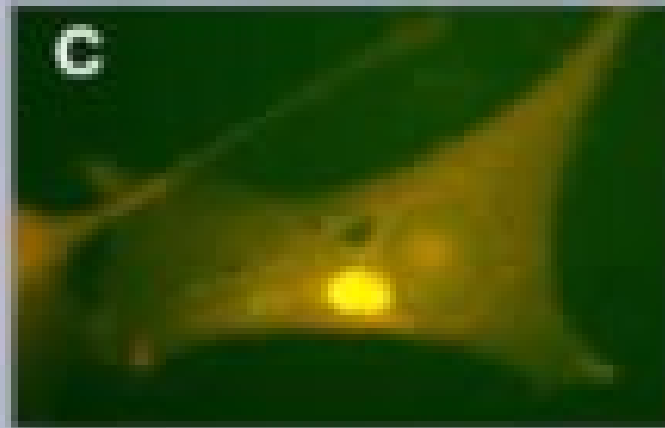
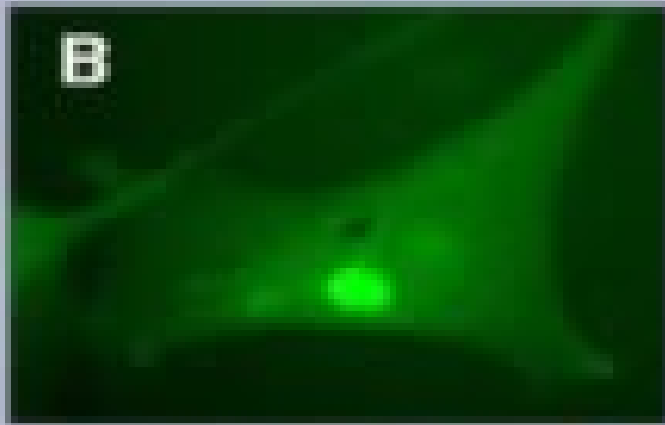
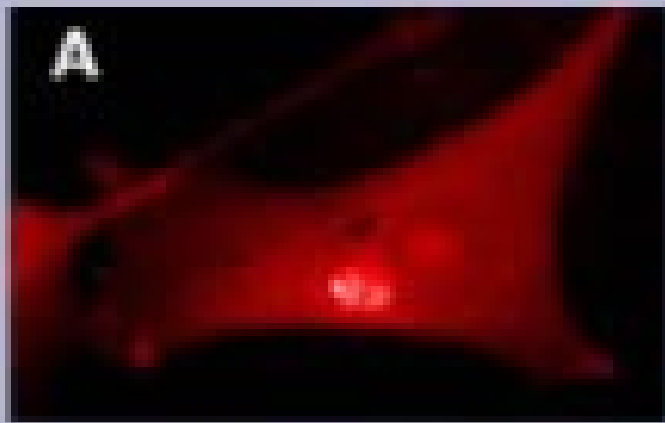
Konec

# Rickettsie a chlamydie

## Bonusový materiál

Rickettsie a chlamydie *nejsou* acidorezistentní bakterie, s mykobakteriemi mají společnou jen intracelularitu. Třeba vám však tento bonusový materiál poslouží u zkoušky...

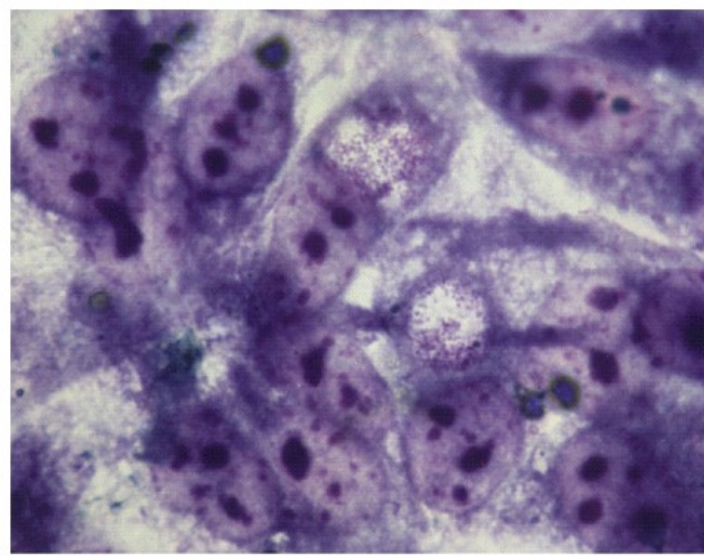
# Chlamydie





# Chlamydie

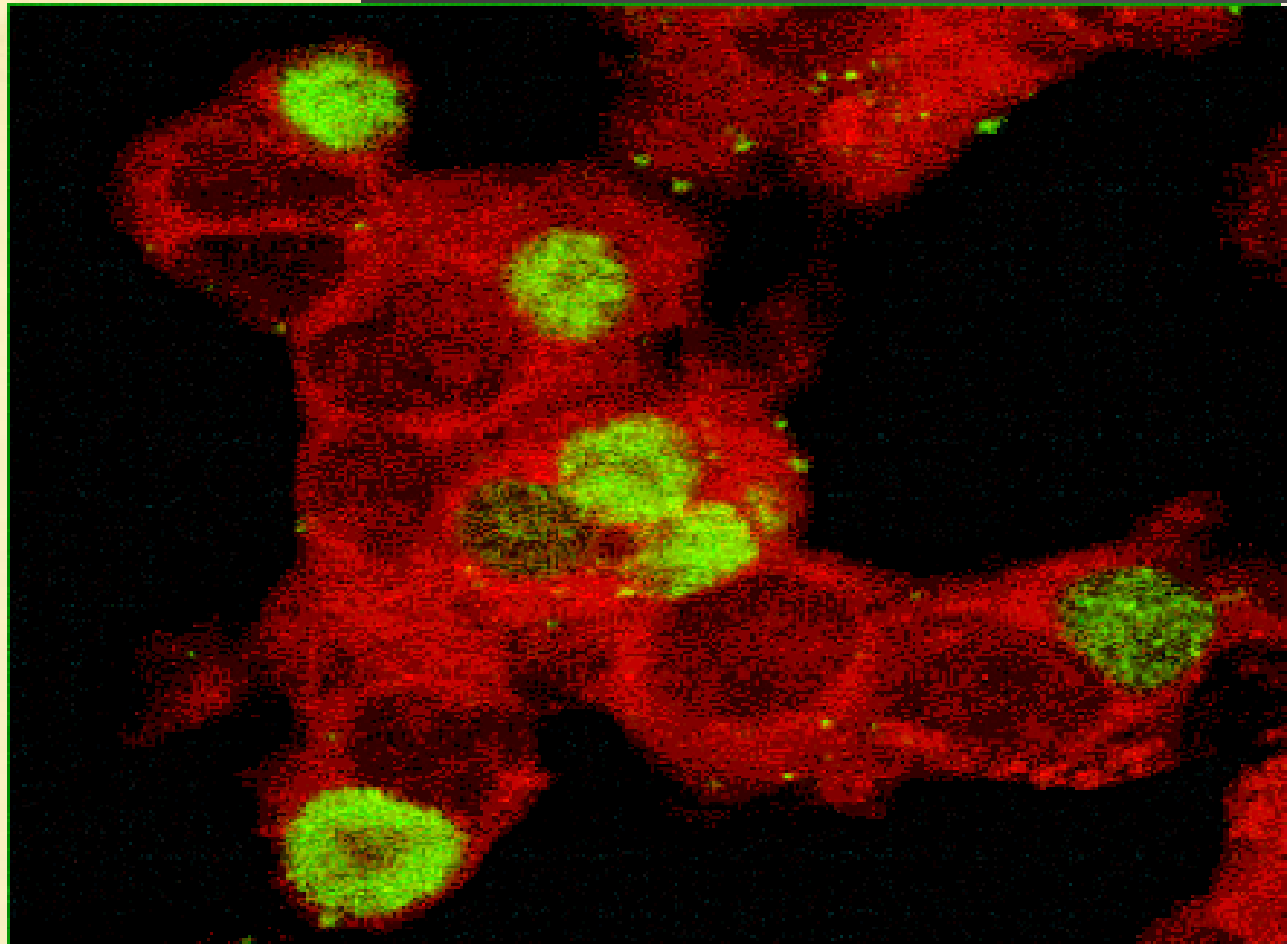
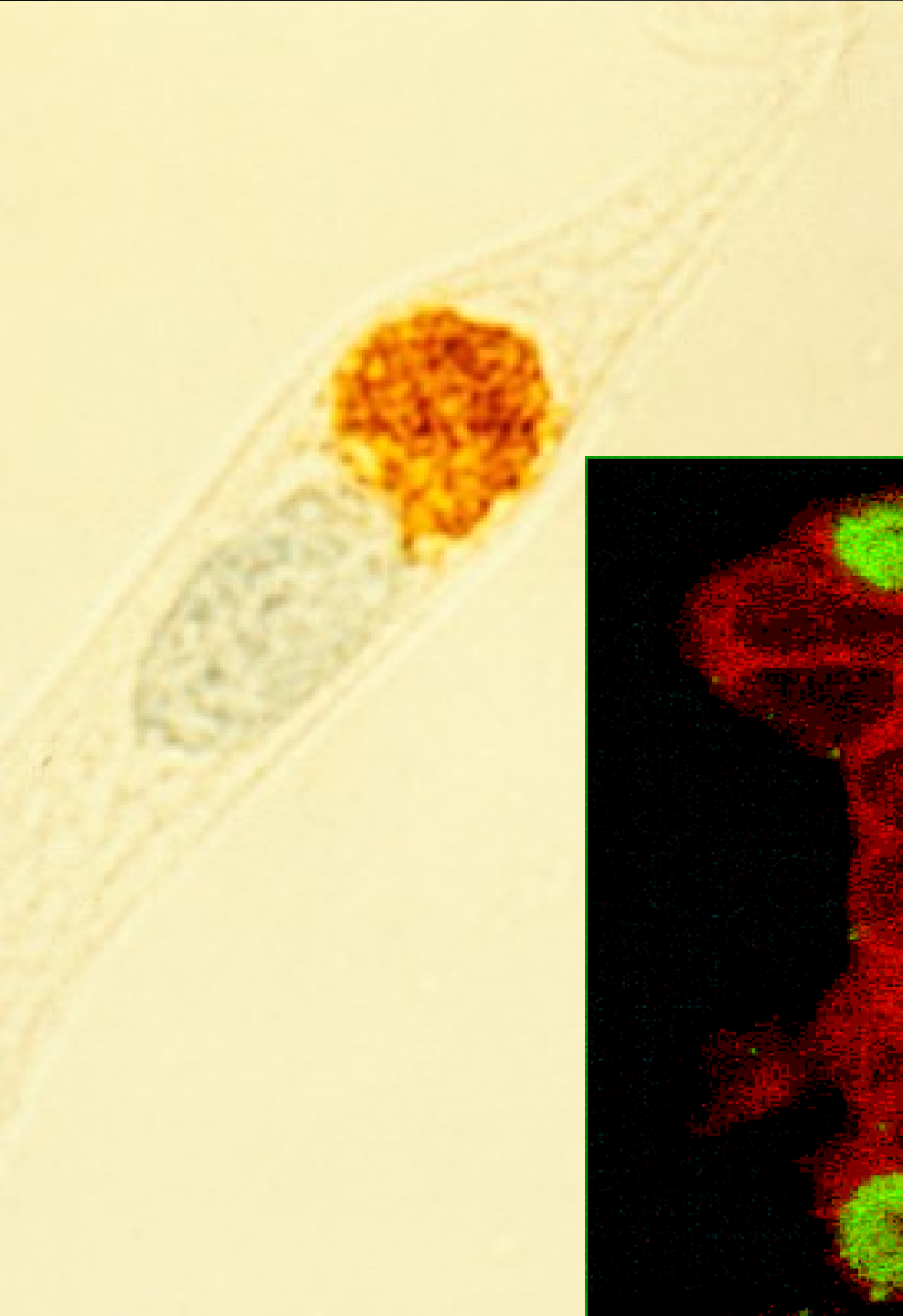
www.roche.com



To be seen each cell are two inclusions with elementary bodies. (Giemsa stain)

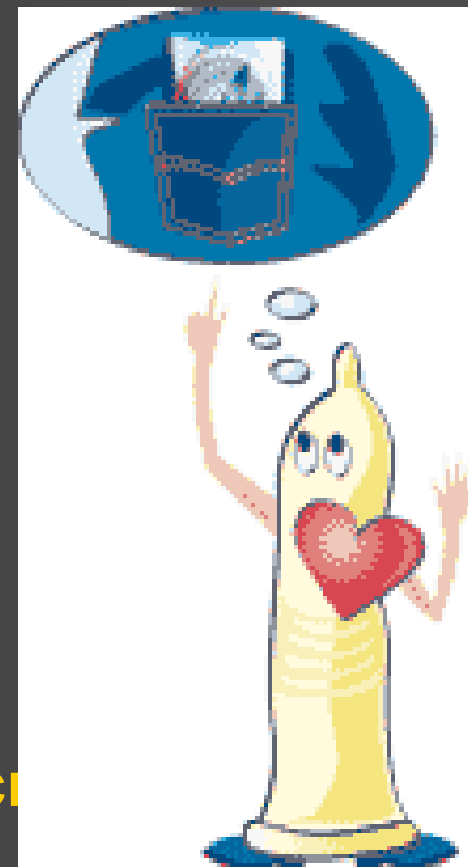
(Foto: Prof. Eiko Petersen, Universität Freiburg/Brsg.)

- povinně **nitrobuněční parazité**.
- jsou to přesto bakterie, v **mnohém blízké gramnegativním**
- od plnohodnotné bakterie, se liší především **neschopností vyrobit ATP**
- mají ale **buněčnou stěnu**.
- rod *Chlamydia* poměrně nedávno rozdělen na rody *Chlamydia* a *Chlamydophila*



# *Chlamydia trachomatis*

- onemocnění závisí na serotypu:
- Serotypy **L1, L2, La2 a L3**
  - vyvolávají tropickou pohlavní nemoc - **lymphogranuloma venereum**.
- Serotypy **D až K**
  - způsobují **pohlavně přenosná onemocnění vyspělých zemích**
  - často bez příznaků
  - možné záněty různých částí pohlavního ústrojí
  - možná neplodnosti
  - mohou též způsobit záněty spojivky – paratrachom



# *Chlamydia trachomatis*

- Serotypy **A, B, Ba a C**
  - způsobují **trachom** – nejčastější příčinu slepoty v rozvojových zemích
  - postižen téměř každý desátý obyvatel zeměkoule (tj. asi půl miliardy lidí!)
  - začíná jako zánět spojivek
  - slepota přichází během 25–30 let
  - přenos dotykem a nespecifickými přenašeči (mouchy).



# Trachom



<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Image:Trachoma.jpg>

# *Chlamydomphila pneumoniae*

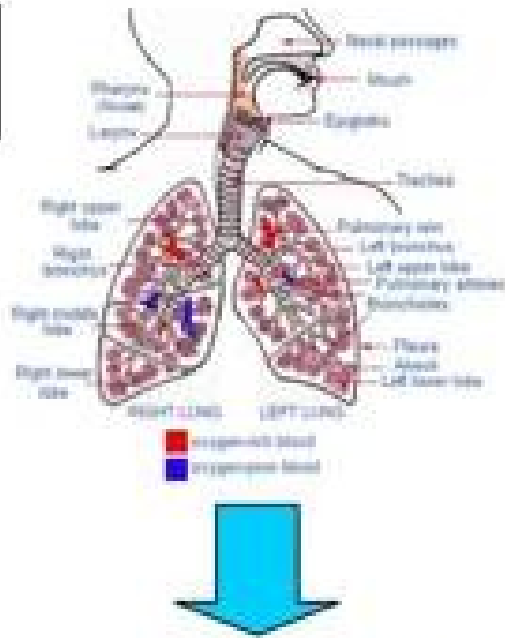
- především onemocnění dýchacích cest
- od rým a zánětů dutin až po záněty plic

# *Chlamydomphila psittaci*

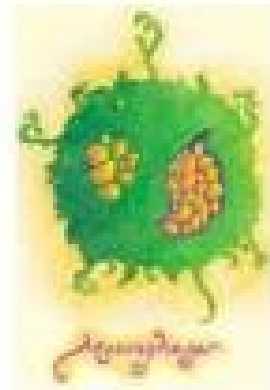
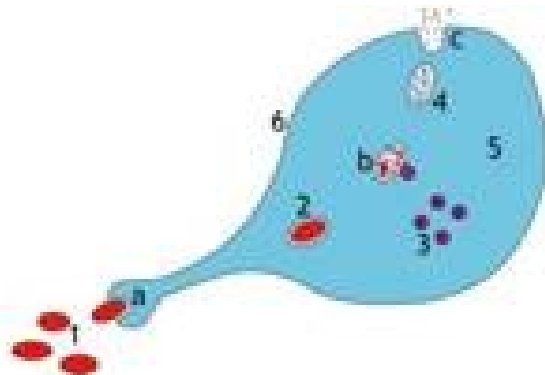
- ptačí nemoc – **ornitóza**
- závažnější papouščí nemoc – **psitakóza**
- důležité je postižení dýchacích cest i jiných orgánů, např. jater
- na chlamydie poměrně odolné, proto přenos i trusem ptáků

**Schematic of Dr. Stratton's Theorized Course of *Chlamydia pneumoniae* Infection and Spread to Multiple Organ Systems**

**I. Respiratory system:  
Initial source of Cpn**

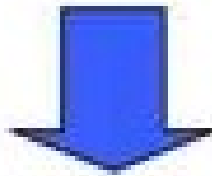


Bronchitis  
Pneumonia  
Sinusitis  
Laryngitis



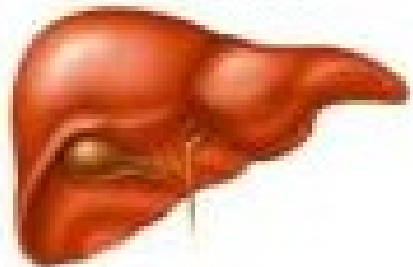
**II. Infected macrophages  
and neutrophils carry Cpn  
from lungs into the blood  
stream:**





**III. Circulating infected immune cells infect filter organs become EB factories:**

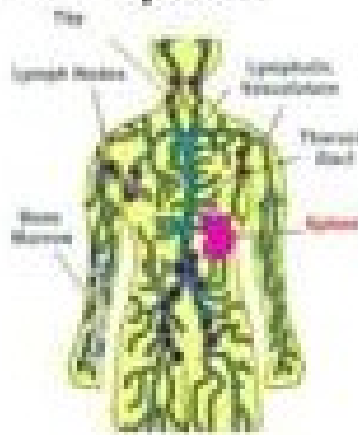
Liver



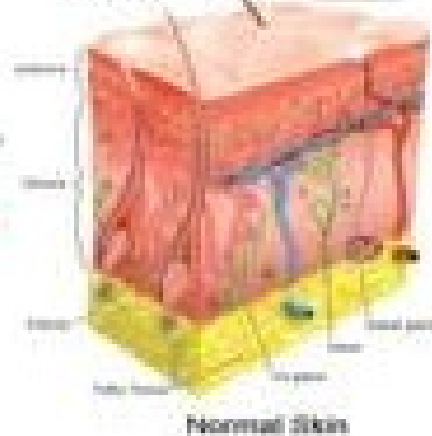
Bone Marrow



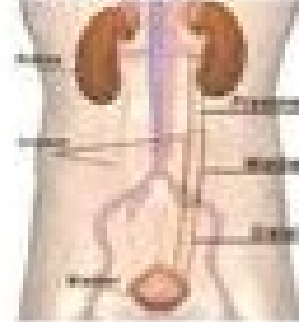
Spleen



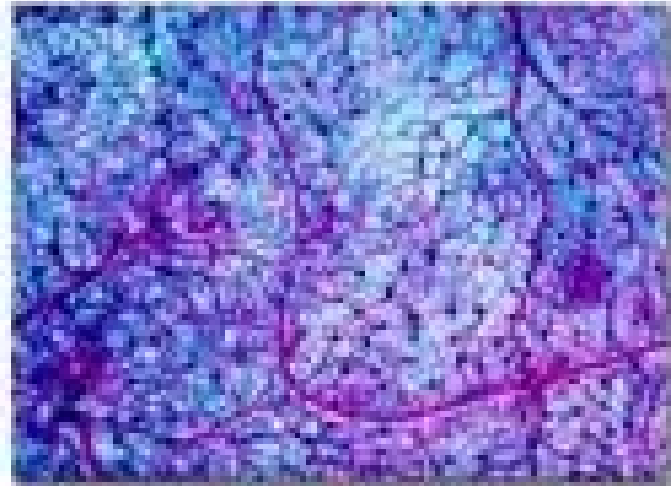
Skin



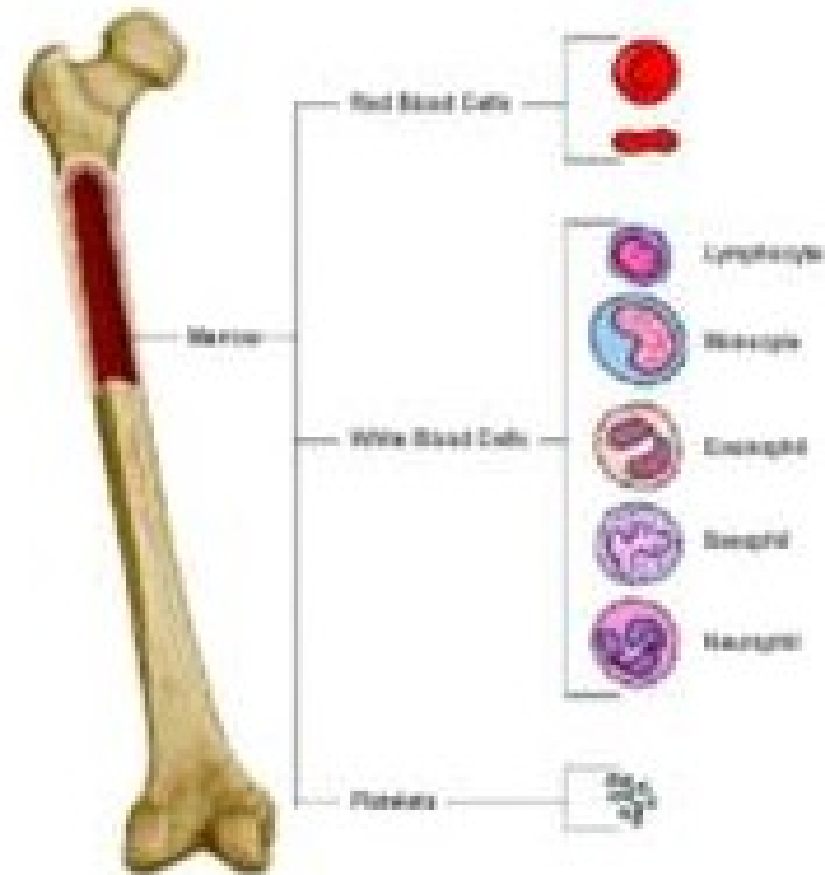
Kidneys



**IV.** EB's also set up shop in small blood vessels (get stuck in capillary beds) and are carried by red blood cells into other tissues.



**V.** Vascular infection then further infects bone marrow cells, which now produce infected and dysfunctional immune cells (white cells, macrophages, etc.), and other organs:

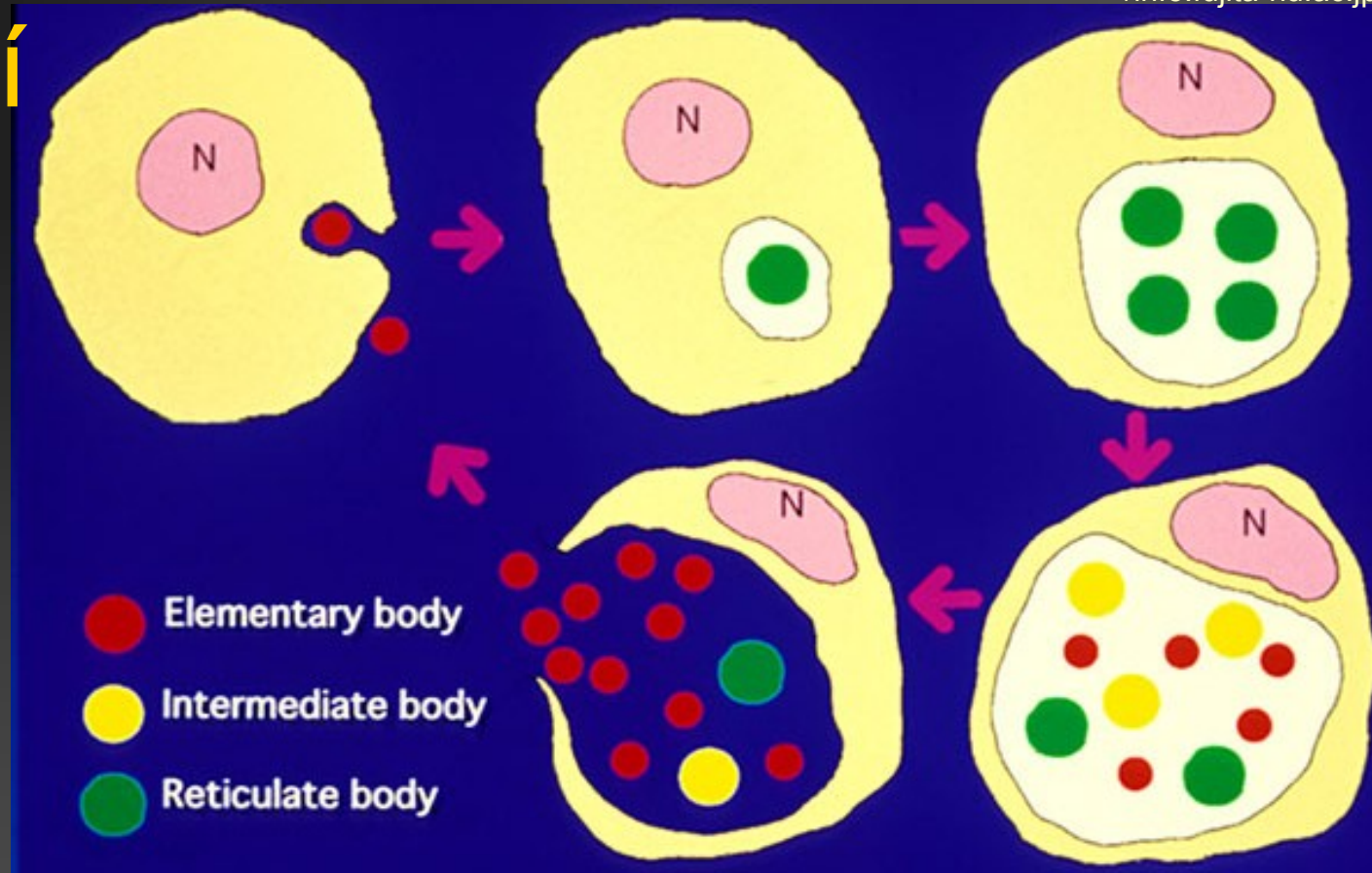


### **Result:**

Neutropenia, low NK cells, infected macrophages, dysfunctional immune cells; lowered immune function; lowered organ functions, etc

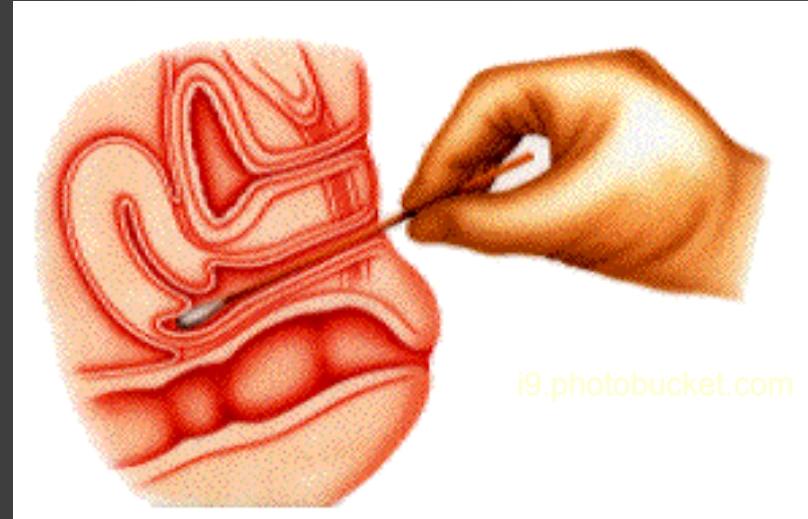
# Chování chlamydií

/info.fujita-hu.ac.jp



- nechají se pohlitit hostitelskou buňkou
- v ní se namnoží
- pak jsou z buňky vypuzeny nebo ji rozloží

# Odebírané vzorky u chlamydií



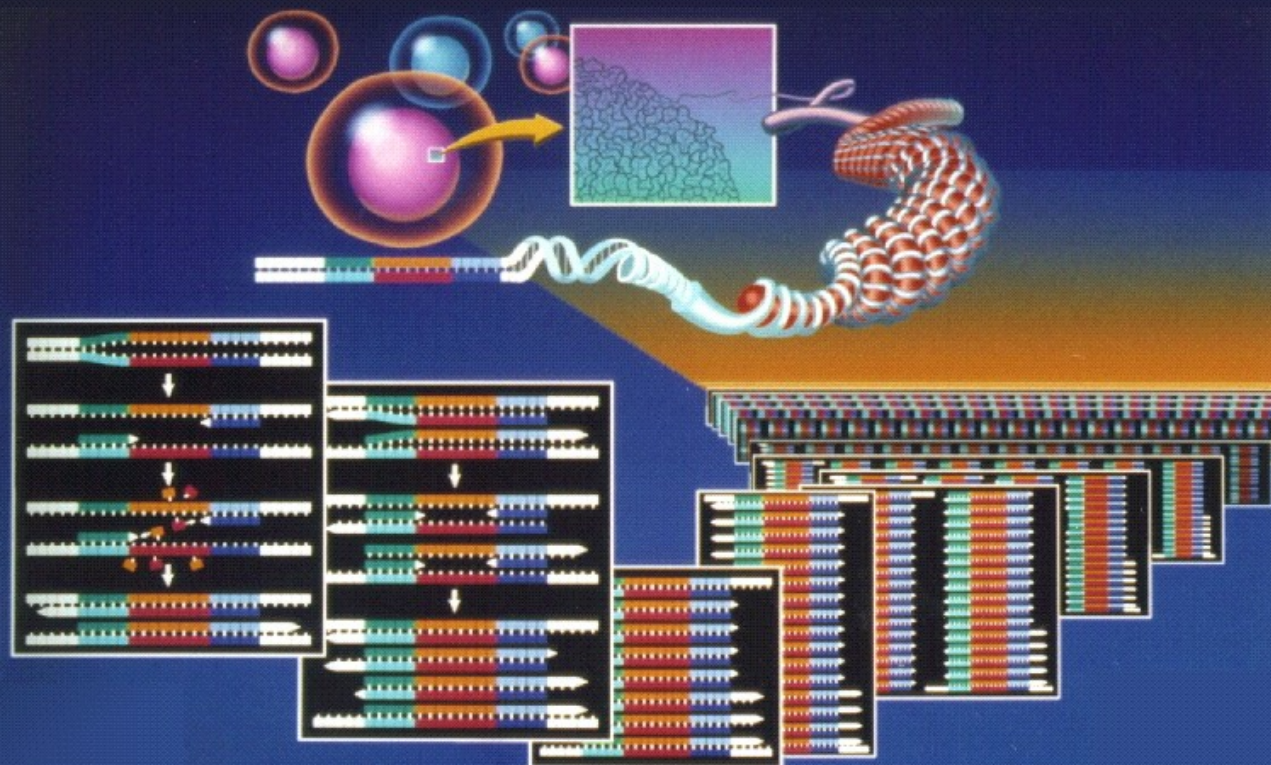
- U nepřímého průkazu samozřejmě sérum
- U přímého průkazu plicních chlamydióz **sputum, případně jiný vhodný materiál** (např. bronchoalveolární laváž)
- U urogenitálních chlamydióz např. **výtěr z cervixu na suchém tamponu** (protože se zpravidla používá průkaz antigenu nebo PCR, ne kultivace)

# Diagnostika chlamydií

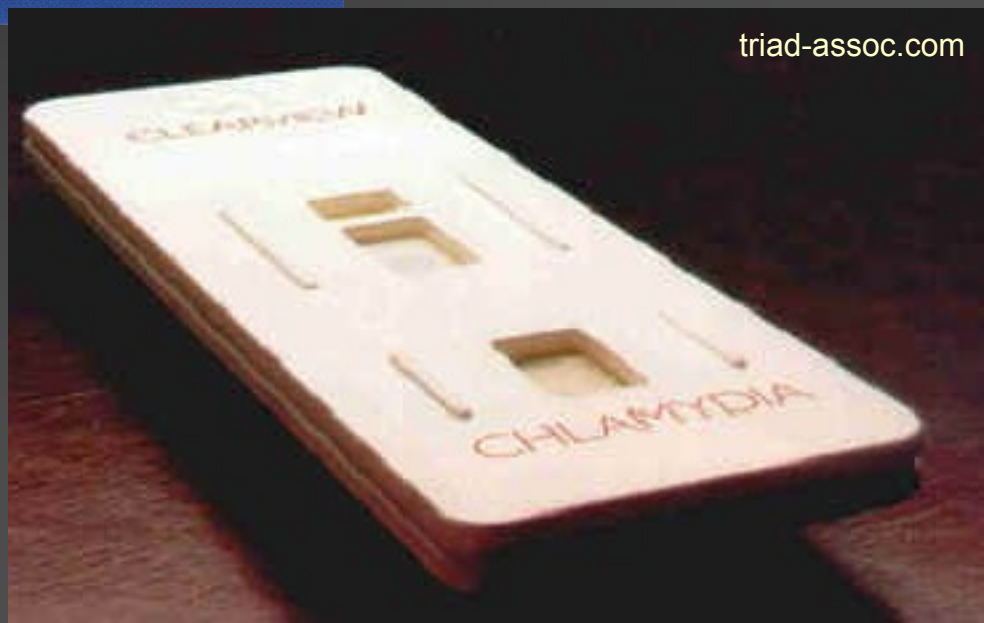
- Mikroskopie s použitím speciálních barviv je možná, ale běžně se neprovádí
- Gramem se nebarví.
- Pro kultivaci nutné speciální odběrové médium
- Kultivace na buněčných kulturách jako u virů  
Pozorují se buněčné inkluze
- Významný je **průkaz antigenu**, např. ELISA
- **Nepřímý průkaz: KFR a ELISA.**
- **Genetické metody:** genová sonda, PCR, LCR

## Léčba

- Tetracykliny, makrolidy



# Z diagnostiky chlamydií





# Rickettsie a příbuzné organismy



# Základní charakteristika rickettsií

- Podobně jako chlamydie odebírají z hostitelských buněk ATP a navíc i jiné živiny
- Jsou rovněž **povinně nitrobuněčnými parazity**
- Při výzkumu rickettsií přispěl badatel **Stanislaus Prowazek z Jindřichova Hradce**
- Některé druhy, dříve považované za příbuzné rickettsií, se dnes za příbuzné nepovažují, dokonce nejde o povinně nitrobuněčné parazity. Všechny jsou to ale **drobné, obtížně kultivovatelné bakterie**

# Klinická charakteristika a přenos

- Způsobují různé choroby, často horečnaté (viz dále), často přenášené členovci

## Léčba

- Používají se zpravidla tetracykliny a jejich deriváty. To platí pro naprostou většinu z nich, jen u *Bartonella bacilliformis* se používá spíše penicilin a streptomycin

# Jak je to tedy s tou příbuzností (aneb Taxonomie)

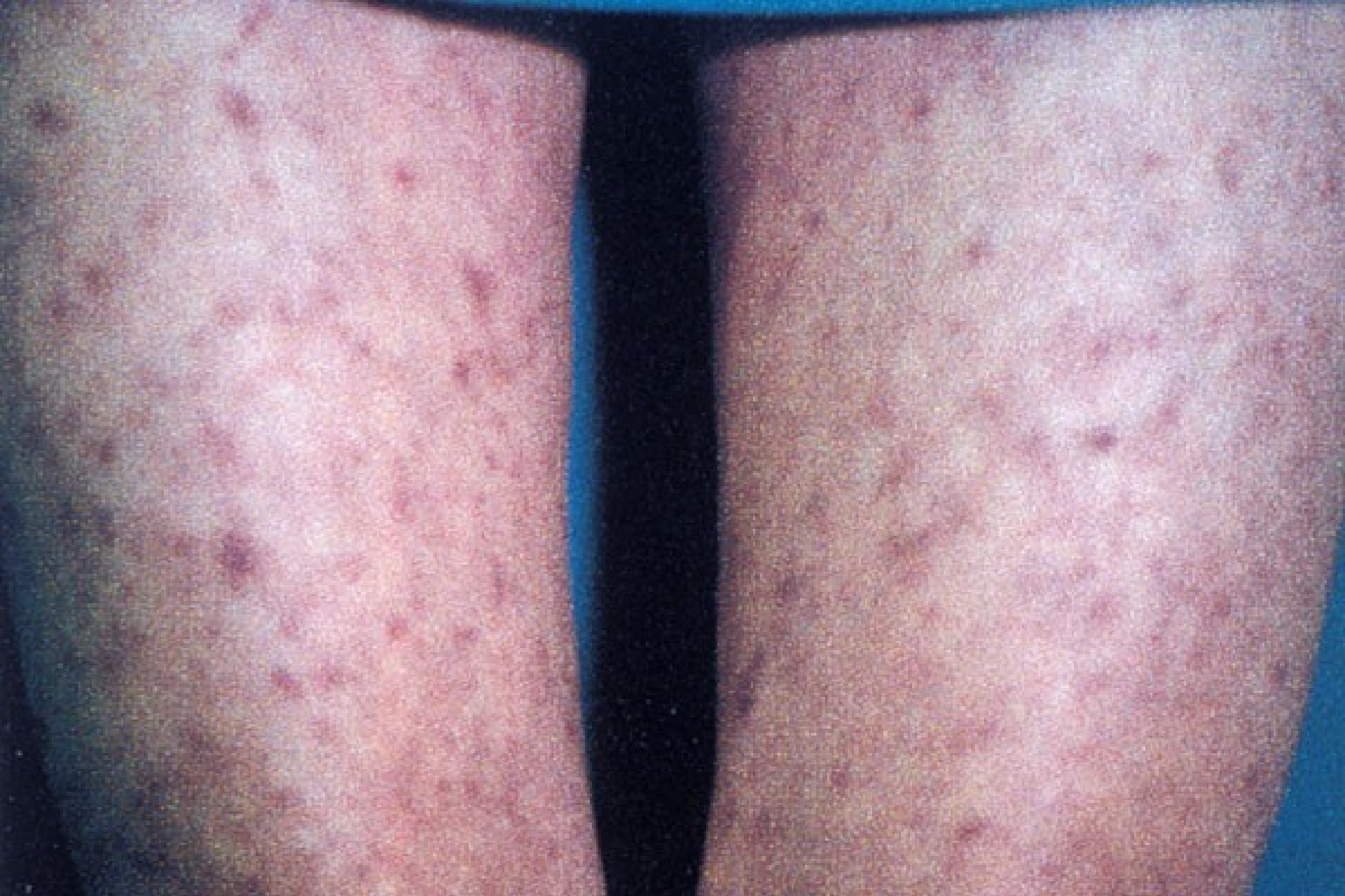
- Řád Rickettsiales byl rozdělen:
  - Čeleď *Rickettsiaceae* – rody ***Rickettsia*** a ***Orientia***
  - Čeleď *Anaplasmataceae* – rody ***Anaplasma***, ***Ehrlichia***, *Neorickettsia*, *Wolbachia*
- Do řádu Rickettsiales dnes již nepatří:
  - ***Coxiella*** (samotná čeleď *Coxiellaceae* v řádu Legionellales, tedy k legionelám)
  - ***Bartonella*** (čeleď *Bartonellaceae* v řádu Rhizobiales). Do rodu *Bartonella* patří i bakterie, dříve řazené do rodu *Rochalimea*

# *Rickettsia*

- Jsou to malé kokobacily velké 0,2 až 0,5  $\mu\text{m}$
- Barví se např. dle Giemsy
- Přenašečem jsou **klíšťata, vši a blechy**
- Onemocnění se vyskytovalo **i u nás, např. za válek**; některé rickettsiózy se i dnes vyskytují v Evropě, většina však spíše v tropech a subtropích, zejména v Africe a Latinské Americe
- Rozlišuje se **skupina skvrnitých horeček** a **skupina skvrnitého tyfu** (tyfových horeček)

# Rickettsie skvrnitých horeček

- Přenos **klíšťaty**
- Česky také „**purpurové horečky**“
- Příkladem je **horečka Skalistých hor** (také Rocky Mountains spotted fever, RMSP; jejím původcem je ***Rickettsia rickettsii***), dále Středozemní, Astracháňská či Africká skvrnitá (různé další druhy rickettsií)
- Existuje i ***Rickettsia slovaca***, která způsobuje onemocnění s horečkou příškvary ve vlasaté části hlavy. Vyskytuje se mj. na Slovensku
- ***Rickettsia akari*** způsobuje tzv. **rickettsiové neštovice**



# Rocky Mountain Spotted Fever

Doc -- PLEASE  
don't miss this one!

The rash is usually  
absent at the onset,  
and may not appear.

"The usual" anti-  
biotics that kill  
most bugs don't  
affect RMSF.

Uh, there weren't  
any ticks on me  
when I got home.

fever

aches

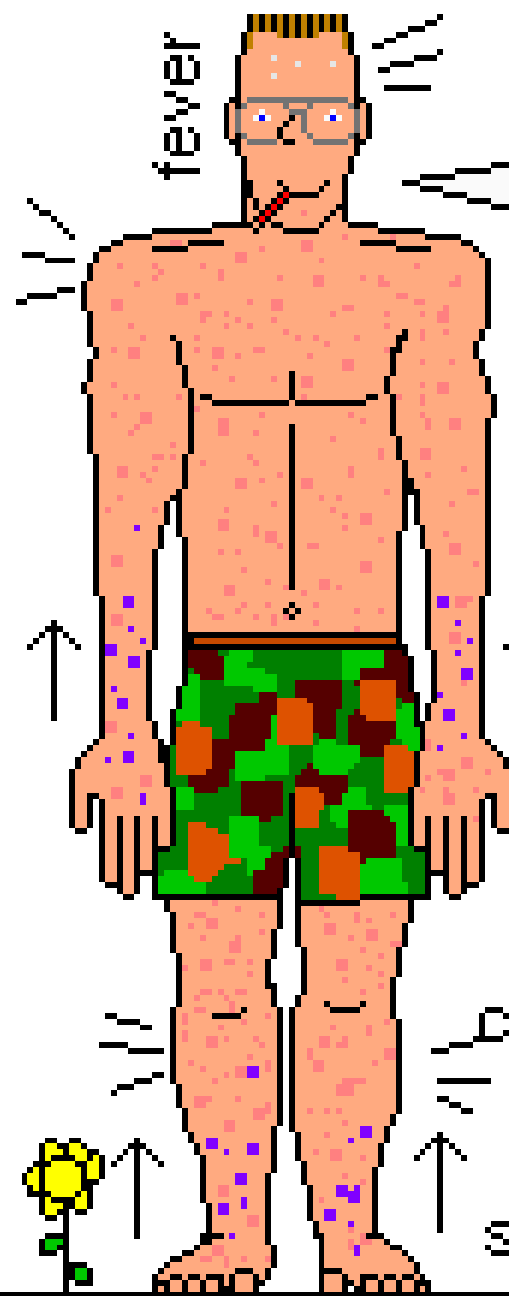
rash moves  
centripetally  
and becomes  
hemorrhagic

check palms  
and soles

spring and summer

Easy to treat;  
often fatal  
if missed!

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

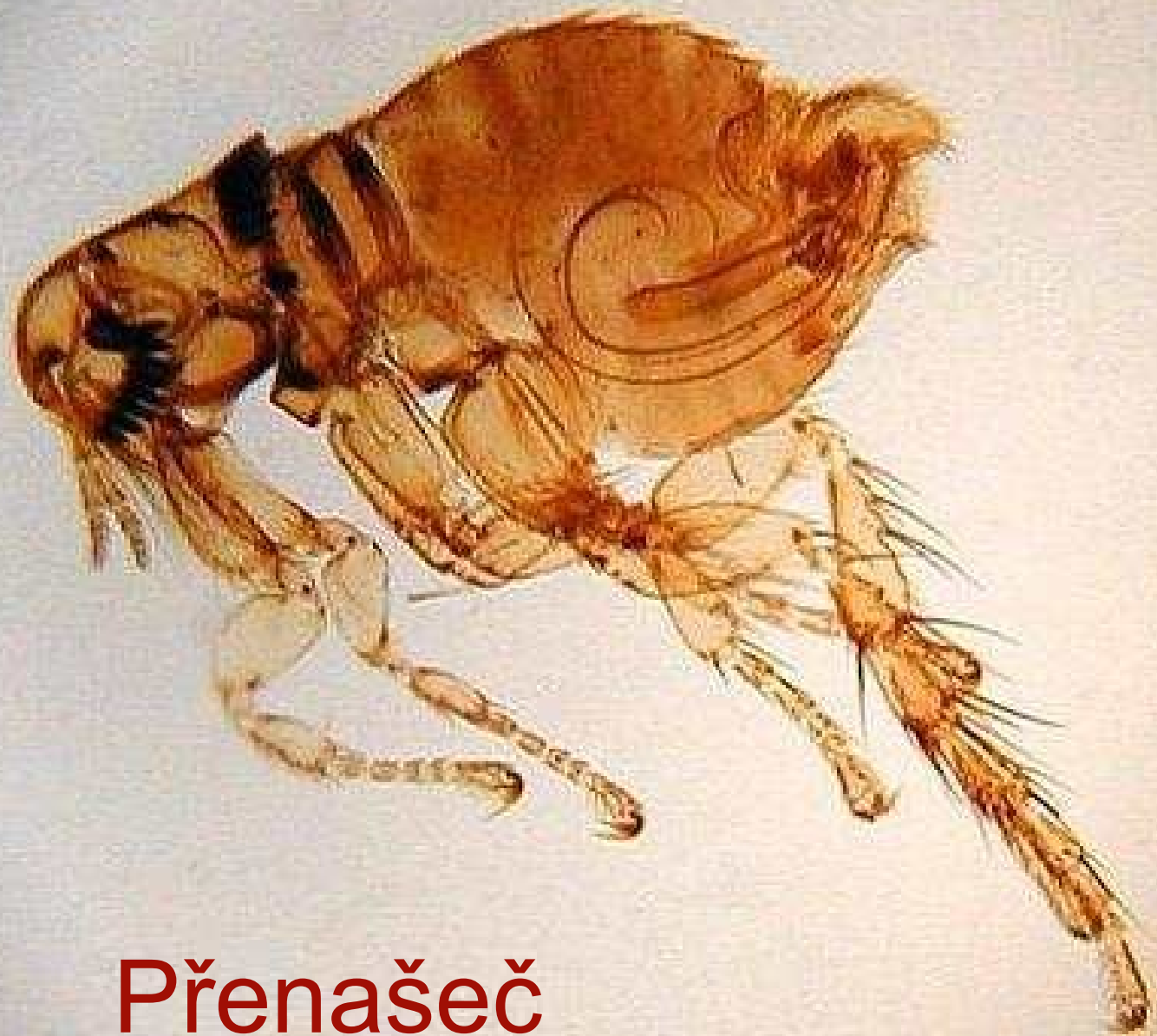


# Rickettsie tyfových horeček

- Přenos šatními **vešmi a blechami**
- Projevují se opět **horečkou a vyrážkou**
- Klasický je **skvrnitý tyfus**, způsobený ***Rickettsia prowazekii***. Oba badatelé, kteří mu dali jméno, na něj zemřeli
- Po prodělání může mikrob přetrvávat v endoteliálních buňkách a po letech může vzniknout mírnější **Brillova-Zinsserova nemoc**
- Existuje také **endemický tyfus** (též myší tyfus), způsobený *Rickettsia typhi*



Flea 40x



Přenašeč

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

# *Orientia*

- Jediným druhem je ***Orientia tsutsugamushi*** (dříve *Rickettsia tsutsugamushi*)
- Způsobuje **křovinný tyfus**, nazývaný též japonská říční horečka či horečka cucugamuši (cucuga = onemocnění, muši = roztoč; přenos roztoči)
- Význam onemocnění vzrostl za II. světové války a za války ve Vietnamu
- Vyskytuje se hlavně **ve východní a jihovýchodní Asii**

# Prowazek

[www.quido.cz/osobnosti/images/prowazek.gif](http://www.quido.cz/osobnosti/images/prowazek.gif)



[www.amphilsoc.org](http://www.amphilsoc.org)

# Stanislaus Prowazek (1875–1915)

- "Nikdo nemůže vyjádřit mínění o povaze viru jen na základě experimentů, tak, jak se v nynější době stává se dogmatem."
- Mikrobiolog a zoolog a objevitel původce skvrnitého tyfu **Stanislaus Prowazek** se narodil v Jindřichově Hradci v rodině důstojníka rakouské armády dne 12. listopadu 1875. Studoval na přírodovědecké fakultě v Praze a ve Vídni. Jeho doktorská práce zaujala Paula Ehrlicha (pozdějšího držitele Nobelovy ceny). A tak se Prowazek stal jeho asistentem. Postupně se stává nadějí německé medicínské parazitologie. Prowazek se stává vedoucím protozoologické laboratoře Institutu pro tropické choroby v Hamburgu. Další osudy této erudované osobnosti jsou spojeny se skvrnitým tyfem, typickou válečnou chorobou. Za tou se Prowazek v roce 1913 vypravuje do Srbska. Prowazek v chotěbuzském zajateckém lágru studoval nad mikroskopem tyfový materiál nemocných zajatců. Toto studium se mu stalo osudným. Podobně jako Ricketts i on se nakazil skvrnitým tyfem a dne 17. února 1915 zemřel.
- 99 [www.quido.cz/osobnosti/images/prowazek.gif](http://www.quido.cz/osobnosti/images/prowazek.gif)

# *Anaplasma phagocytophilum*

- Často je z praktických důvodů původce řazen mezi ehrlichie. Vyskytuje se v Evropě i USA
- Způsobuje nemoc zvanou **HGE (human granulocytar ehrlichiosis)**
- Příznaky jsou **horečka, bolesti hlavy a svalů**
- Onemocnění přenášejí klíšťata, někdy se hovoří o **klíšťové ehrlichioze**, po borelióze a klíšťové encefalitidě je to třetí nejvýznamnější klíšťové onemocnění u nás

# Ehrlichie (ostatní)

- ***Ehrlichia chafeensis*** se vyskytuje převážně v USA. Způsobuje nemoc zvanou **HME** (human monocytar ehrlichiosis); nevolnost, horečka, bolest hlavy a další
- ***Ehrlichia ewingii*** se také vyskytuje v USA. způsobuje tzv. **Ewingovu ehrlichiózu** (bolest hlavy, horečka, hlavně oslabení pacienti)
- Příbuzná ***Neorickettsia sennetsu*** se vyskytuje ve východní Asii a způsobuje horečku sennetsu. Na rozdíl od ostatních ji nepřenášejí klíšťata, člověk se nakazí pozřením syrových ryb (japonské suši)

# *Coxiella burnetii*

- Je to drobná G- tyčinka ( $1 \times 0,3 \mu\text{m}$ ), ale barví se spíše dle Giemsy či Giménezze
- Způsobuje takzvanou **Q-horečku**, poprvé popsanou 1937 v Austrálii
- Jde o **akutní horečnaté onemocnění** s atypickou pneumonií nebo chronickou infekci s endokarditidou. Může postihnout i játra či mozkové blány
- Vyskytuje se **ve všech světadílech**. Zdrojem jsou hlodavci, přenašečem klíšťata

# *Bartonella*

- Jsou to **G- tyčinky**, barví se však lépe Giemsou. Jsou jen fakultativně intracelulární.
- Jsou dokonce schopny růst na krevním nebo čokoládovém agaru, musí ale mít 10 % CO<sub>2</sub> a **vyrostou až za 5 až 42 dní**. Proto je i u nich podobná diagnostika jako u ostatních
- Mohou **přežívat v erythrocytech**, což je chrání před imunitní odpovědí i antibiotiky



# Jednotlivé druhy 1

- ***Bartonella quintana*** (dříve *Rochalimea*) je původcem volyňské či zákopové horečky, známé z I. světové války. Dnes může být problémem u bezdomovců, narkomanů či alkoholiků. Jde o horečku s bolestmi.
- ***Bartonella hensellae*** způsobuje tzv. bacilární angiomatózu (porušení kůže a vnitřních orgánů) a některé případy nemoci z kočičího škrábnutí (další má na svědomí *Afipia felis*)

# Jednotlivé druhy 2

- ***Bartonella bacilliformis*** je původcem **horečky Oroya**. Smrtnost horečky Oroya je až 40 %. Vyskytuje se hlavně v Jižní Americe
- Při horečce, ale i v případě, kdy horečka není přítomna, je také možný výskyt tzv. **peruánských bradavic** (*verruca peruviana*)
- Jeden peruánský student medicíny chtěl dokázat, že peruánské bradavice způsobuje mikrob. Naočkoval se materiálem z bradavice a zemřel na horečku Oroya. Ta se po něm jmenuje také **Carrionova choroba**

# Diagnostika rickettsií a dalších druhů

- se provádí **jen ve vyčleněných laboratořích** za zvlášť přísných bezpečnostních opatření
- mikroskopie se zpravidla neprovádí
- **kultivace na žloutkovém vaku nebo buněčných kulturách**
- **antigenní analýza imunofluorescencí**
- **PCR**
- **nepřímý průkaz** KFR, aglutinací a imunofluorescencí
- u některých rickettsií funguje zkřížená aglutinace – protilátky reagují s O antigeny některých nepohyblivých kmenů Protea (tzv. Weil-Felixova reakce)

# Konec bonusového materiálu

[emma-jane4.tripod.com](http://emma-jane4.tripod.com)

