

Ondřej Zahradníček:

Orální mikrobiologie pro dentální hygienistky

Skripta pro dentální hygienisty a hygienistky

Obsah

Téma 1 Přehled mikrobů. Patogenita a virulence.	3
1.1 Jednotlivé skupiny mikrobů – obecný přehled a možnosti rozdělení	3
1.2 Patogenita a virulence.	5
1.3 Průběh infekčního procesu a faktory, které se na něm podílejí	6
Téma 2 Přehled mikrobiologických vyšetřovacích metod	8
2.1 Cíle a základní rozdělení mikrobiologických metod. Pojmy kmen a vzorek	8
2.2 Metody přímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)	9
2.3 Metody nepřímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)	13
Téma 3 Přehled klinicky nejvýznamnějších bakterií	18
3.0 Úvod	18
3.1 Nejdůležitější grampozitivní koky	18
3.2 Nejdůležitější grampozitivní tyčinky	18
3.3 Nejdůležitější gramnegativní koky:	19
3.4 Nejdůležitější gramnegativní tyčinky	19
3.5 Nejdůležitější anaeroby:	20
3.6 Nejdůležitější spirochety:	21
3.7 Nejdůležitější z ostatních bakterií:	21
Téma 4 Přehled klinicky nejvýznamnějších virů, hub a parazitů	22
4.1 Nejdůležitější DNA viry	22
4.2 Nejdůležitější RNA viry	22
4.3 Původci mykóz, vyšetřovací metody v mykologii	24
4.4 Paraziti a jejich vyšetřování	26
Téma 5 Desinfekce a sterilizace	29
5.1 Mikroby a prostředí, chování mikrobů při změnách jednotlivých faktorů v prostředí	29
5.2 Zásady praktického použití dekontaminačních metod	30
5.3 Přehled nejdůležitějších dekontaminačních metod	31
Téma 6 Antimikrobiální látky	33
6.0 Úvod	33
6.1 Peniciliny, cefalosporiny, glykopeptidy a chinolony (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)	33
6.2 Aminoglykosidy, makrolidy, tetracykliny, linkosamidy a chloramfenikol (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)	35
6.3 Primární a sekundární rezistence mikrobů, ESBL, MRSA, VRE a jejich význam. Antibiotická střediska	37
6.4 Kvalitativní a kvantitativní testy citlivosti na antibakteriální látky, význam MIC	38

Téma 7 Základy imunologie	40
7.0 Úvod	40
7.1 Anatomické bariéry a fyziologické mechanismy	40
7.2 Nеспецифická imunita	41
7.3 Specifická imunita	42
7.4. Poruchy imunity	43
7.5 Imunoterapie (léčení imunopreparáty)	45
Téma 8 Systémové a závažné orgánové infekce	47
8.1 Etiologie a diagnostika sepsí a endokarditid	47
8.2 Infekční hepatitidy a AIDS	48
8.2.2 Infekce způsobené virem HIV	49
8.3 Infekce nervového systému	49
8.4 Infekce ran	51
8.5 Infekce kostí, kloubů a svalů	52
8.6 Anaerobní infekce – původci, transport materiálu, zásady diagnostiky	53
Téma 9 Infekce respirační, střevní a močové	55
9.1 Respirační infekce	55
9.2 Infekce trávicího traktu	57
9.3 Močové infekce	59
Téma 10 Některé další infekce mimo ústní dutinu	62
10.1 Nákazy pohlavních orgánů a pohlavně přenosné nákazy	62
10.2 Nemoci projevující se na kůži a jejich diagnostika.	64
10.3 Infekce v těhotenství, infekce plodu a novorozence	65
10.4 Nozokomiální nákazy	67
Téma 11 Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky	72
11.1 Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu	72
11.2 Přehled základních odběrových souprav a nádobek	73
11.3 Správně vyplněná průvodka (žádanka) a její význam	74
Téma 12 Mikrobiální osídlení ústní dutiny, ekologie dutiny ústní	75
12.1 Mikroflóra dutiny ústní	75
12.2 Zubní plak	76
Téma 13 Onemocnění v dutině ústní s účastí mikrobů (zubní kaz, parodontitida a další)	77
13.1 Zubní kaz	77
13.2 Gingivitida a parodontitida	81
13.3 Klíčové patogeny	84
Téma 14 Ústní projevy nákaz, které nejsou omezeny na ústní dutinu. Infekce lokalizované v okolí ústní dutiny	86
14.1 Virózy v dutině ústní	86
14.2 Mykotické infekce v dutině ústní	87
14.3 Bakteriální infekce v dutině ústní	88
14.4 Infekce v okolí ústní dutiny	88

Upozornění: Jde o provizorní verzi skript, která ještě není zcela doladěna a může obsahovat chyby, za které se omlouvám.

Téma 1 Přehled mikrobů. Patogenita a virulence.

1.1 Jednotlivé skupiny mikrobů – obecný přehled a možnosti rozdělení

Mikrobiologie se zabývá mikroorganismy (mikroby). Mikrob je **živý organismus, pozorovatelný pouze mikroskopicky**. Někdy jsou mikroskopická jen některá stadia (např. vajíčka tasemnic). Některé parazitární organismy (třeba vši) mezi mikroby nepatří, ale z praktických důvodů se probírají v rámci mikrobiologie.

Mikroby se vyskytují **všude kolem nás**. Vyskytují se i v **extrémním prostředí**, například v hlubokomořských příkopech, v prostředí s vysokou radioaktivitou, v ledovcích Antarktidy. Mají ohromné možnosti adaptace na vnější prostředí.

Mikroby poprvé pozoroval **Antony van Leeuwenhoek**. Skutečný rozvoj mikrobiologie ale nastal až s nástupem systematických výzkumů, zejména díky **Louisi Pasteurovi a Robertovi Kochovi**.

Za **klinicky významné** považujeme takové mikroby, které mají vztah k lidskému tělu, tj. že se za určitých okolností vyskytují na jeho povrchu nebo v jeho dutinách či dokonce tkáních. **Ne každý klinicky významný mikrob je nutně škodlivý**; některé bakterie přítomné například ve střevě, ústní dutině, na kůži či v pochvě žen jsou **neškodné či dokonce prospěšné**. Více v kapitole 1.2.

V zásadě si můžeme definovat **pět skupin klinicky významných mikrobů**. Nebude to rozdělení kompletní – chybějí například bakteriím příbuzné sinice, které mohou mít také klinický význam (zejména z důvodu toxických a alergických účinků). Přesto toto rozdělení má svou logiku a má smysl se ho držet.

1. **Priony** (neobsahují nukleovou kyselinu, např. původce „nemoci šílených krav“)
2. **Viry** (nemají buňku, jen nukleovou kyselinu a bílkovinu)
3. **Bakterie** (jednoduché prokaryotní buňky)
4. **Mikroskopické houby** (eukaryotní buňky nebo vícebuněčné organismy, příbuzné v něčem rostlinám, v něčem zase živočichům; prakticky vzato se jedná o kvasinky a plísně); jimi způsobeným zánětům říkáme **mykózy**
5. **Paraziti** (živočišné eukaryotní buňky nebo mnohobuněčné organismy)

1.1.1 Rozdělení bakterií

Bakterie jsou dnes klasifikovány do tříd, řádů a čeledí, podobně jako je tomu u rostlin a živočichů. Stále větší roli přitom hrají informace o jejich genetické příbuznosti. V praxi se však stále používá třídění podle znaků pozorovatelných při diagnostice. Především jde o tvar, uspořádání a typ buněčné stěny, ale i vztah ke kyslíku a další vlastnosti. Bakterie lze tedy členit například:

1.1.1.1 podle tvaru a uspořádání

- **koky** – kulovité, mohou tvořit dvojice, řetězky, shluky...
 - **koky ve dvojicích (diplokoky)** – například neisserie či *Streptococcus pneumoniae*
 - **koky ve shlucích** – např. stafylokoky
 - **koky v řetězcích** – například enterokoky
 - **koky uspořádané po čtyřech, osmi apod.**

Je potřeba se při hodnocení uspořádání bakterií vyvarovat pojmů "stafylokoky" a "streptokoky". Tyto pojmy se sice historicky v této souvislosti používaly, dnes by však byly matoucí, protože tyto pojmy se používají ve významu "zástupce rodu *Staphylococcus*", resp. "zástupce rodu *Streptococcus*".

Někdy se uspořádání hodnotí i u tyčinek, není to však u nich zpravidla tak významné.

- **tyčinky** – protáhlé, mohou být rovné, zahnuté, několikrát zprohýbané (spirily)...
- **kokotyčinky** (kokobacily) – přechod mezi koky a tyčinkami
- **spirochety** – ve tvaru dlouhé, tenké spirály
- **bez tvaru** – mykoplasmata nemají buněčnou stěnu, a tedy ani tvar

1.1.1.2 podle tzv. Gramova barvení (je to dáno typem buněčné stěny)

- **grampozitivní** – barví se fialově (tlustá, jednoduchá buněčná stěna)

- **gramnegativní** – barví se červeně (tenká, zato složitá buněčná stěna)
- **Gramem se nebarví** – jiný typ stěny (mykobakteria) nebo stěnu nemají (mykoplasmata), jsou příliš tenké a proto se nebarví (spirochety) apod.

1.1.1.3 podle vztahu ke kyslíku

- **striktně aerobní** (rostou pouze v přítomnosti kyslíku)
- **fakultativně anaerobní** (dokáží „přepínat metabolismus“ a přizpůsobit se)
- **aerotolerantní** (metabolismus „nepřepínají“, ale také se přizpůsobí, v praxi neodlišitelné od předchozích)
- **striktně anaerobní** (vyžadují atmosféru bez kyslíku; některé z nich opravdu hynou už při stopových množstvích O₂)
- **mikroaerofilní** (potřebují kyslík, ale musí ho být málo)
- **kapnofilní** (potřebují kyslík, ale také zvýšený podíl CO₂ v atmosféře)

pro praxi se používá často jen dělení na aerobní (rostou za normální atmosféry, v podstatě první tři skupiny), anaerobní (vyžadují atmosféru bez kyslíku), mikroaerofilní a kapnofilní.

1.1.1.4 další možnosti klasifikace

například podle vztahu k teplotě (*termofilní – mesofilní – psychofilní*; druhé dva pojmy se používají např. v mikrobiologii vody), podle schopnosti sporulovat, podle přítomnosti různých enzymů (*kataláza pozitivní – kataláza negativní*) a podobně.

1.1.2 Rozdělení virů

Viry nemají buněčnou stěnu a tvarově jsou značně odlišné od bakterií. Člení se proto jinak, než bakterie:

1.1.2.1 Podle typu nukleové kyseliny

- **DNA viry** mají genetickou informaci uloženou v deoxyribonukleové kyselině, stejně jako buňky bakterií nebo člověka; RNA – stejně jako naše buňky – používají při tvorbě bílkovin
- **RNA viry** mají genetickou informaci uloženou v ribonukleové kyselině. Při výrobě bílkovin se buďto na základě jedné molekuly RNA vytvoří druhé vlákno, nebo se pomocí reverzní transkriptázy převádí RNA zpátky do DNA (retroviry, například virus HIV)

1.1.2.2 Podle počtu vláken nukleové kyseliny

Viry mohou mít dvouvláknovou (ds) nukleovou kyselinu, podobně jako je to v našich buňkách. Některé však mají nukleovou kyselinu jednovláknovou (ss). Pak se ještě rozlišuje, jestli jde o „plus vlákno“ nebo „mínus vlákno“

1.1.2.3 Podle obalu

- **obalené viry** mají kromě nukleové kyseliny a bílkoviny ještě fosfolipidovou membránu jako obal. Ve většině případů tento obal pochází z hostitelské buňky a není přítomen v té části života viru, kterou virus tráví uvnitř buňky hostitele. Obalené viry jsou překvapivě zranitelnější než neobalené: při ztrátě obalu (například působením detergentů) totiž nepřežívají.
- **neobalené viry** jsou překvapivě zpravidla odolnější vůči desinfekci, zvláště povrchově aktivním látkám (detergentům – to jsou třeba prostředky na mytí nádobí, k desinfekci se z nich používá například Ajatin). Odolnost je dána tím, že „nemají co ztratit“ – na povrchu nemají žádnou membránu, kterou by detergent mohl rozložit.

1.1.2.4 Podle typického hostitele

- **lidské viry** tvoří jen část ze všech významných virů, například z rozsáhlé skupiny herpesvirů je pro člověka významných jen osm (viz dále)
- **viry zvířat a rostlin** jsou velmi početné. Existují také bakteriální viry, zvané **bakteriofágy**. Někdy jsou vybíravé – napadají třeba jen určité kmeny zlatých stafylokoků. Pokud sledujeme, které kmeny jsou kterým bakteriofágem napadány, můžeme to využít v diagnostice. Takovému postupu říkáme fagotypizace a používá se hlavně

v epidemiologii (například se dokazuje, zda kmen, který způsobil epidemii ve městě A, je totožný s tím, který způsobil o měsíc dříve epidemii v sousedním městě B).

1.2 Patogenita a virulence.

Klinicky významné mikroby mohou žít s člověkem v míru jako naši neškodní nebo dokonce užiteční průvodci. Mohou se ale také podílet na vzniku různých infekčních onemocnění či infekčních komplikací (například zhnisání rány).

Důležité je vždy rozlišovat mezi **mikrobem, který onemocnění způsobil** (původce nemoci, např. virus klíšťové encefalitidy nebo salmonela), **nemocí samotnou** (například klíšťová encefalitida nebo salmonelóza) a v některých případech i **přenašečem** (u klíšťové encefalitidy je to klíště). Zdravotník by neměl používat nepřesných termínů jako „onemocněl salmonelou“ (místo salmonelózou) nebo „očkování proti klíšťatům“ (místo proti klíšťové encefalitidě). To ponechme nepoučeným (a nepoučitelným) bulvárním novinářům.

Při definici významu mikroorganismů pro onemocnění člověka, zvířete či rostliny, se používají pojmy patogenita a virulence. Oba tyto pojmy vlastně znamenají schopnost poškodit. Přesto neznamenají totéž, jak uvidíme vzápětí.

1.2.1 Virulence

Na rozdíl od patogenity představuje okamžitou vlastnost konkrétního **kmene** mikroba (kmen je populace mikroba vzešlá z jedné buňky, více k pojmu „kmen“ je uvedeno dále).

Kmeny tedy mohou být

- **avirulentní** – tedy v daném okamžiku úplně neškodné, neschopné napadat makroorganismus
- **méně či více virulentní** – tedy disponující různou mírou schopnosti napadnout makroorganismus.

Avirulentní kmen se může stát virulentním například v důsledku mutace nebo třeba i tím, že bakterie sama je napadena svým virem (bakteriofágem). Stejně tak se ale může virulentní kmen stát méně virulentním či avirulentním. Je například běžně pozorováno, že bakterie snižují svou virulenci, pokud je opakovaně pěstujeme na umělých kultivačních médiích.

1.2.2 Patogenita

je **vlastnost určitého mikrobiálního druhu** ve vztahu k danému makroorganismu (v našem případě člověku, jindy zvířeti, rostlině). Z hlediska patogenity existují **tři skupiny mikrobů**:

1) **Nepatogenní: nejsou schopny** vyvolat u daného živočišného druhu nemoc.

Většinou je to proto, že se vůbec neumějí v makroorganismu (= člověku) uchytit.

Opačná možnost – tedy že jsou naopak tak dobře adaptované na člověka, že s ním dokáží použít, aniž by vyvolávaly nemoc – je teoreticky také možná, jenže skoro vždycky hrozí, že rovnováha se poruší a nemoc nastane. V tom případě už ale nemůžeme označit takový druh mikroba za nepatogenní.

Dalo by se také říci, že u nepatogenních bakterií nepřipadá v úvahu, že by některý jejich kmen byl virulentní. Všechny jsou zcela avirulentní.

2) **Potenciálně (oportunně, podmíněně) patogenní** jsou takové mikroby, které vyvolávají chorobu jen někdy, jindy jsou "hodné". Typicky jsou to bakterie, které jsou zvyklé s člověkem žít v pokoji (a velmi často jako součást jeho běžné flóry). Typickým příkladem je *Escherichia coli* – známá součást běžné mikrobiální flóry střeva. K infekci potenciálním patogenem dojde zpravidla

- V případě **průniku bakterie na jiné místo** než kde se vyskytuje normálně: u *Escherichia coli* například do močových cest (je nejběžnějším původcem močových infekcí!), do rány, do břišní dutiny apod.
- V případě **výskytu kmene se zvýšenou virulencí** i na původním místě (existují např. enteropatogenní kmeny *Escherichia coli*, které způsobují průjmy novorozenců a kojenců)
- V důsledku **přítomnosti nějakých faktorů, které ovlivňují vztah mikrob – makroorganismus**: narušení rovnováhy mikrobiální flóry, základní onemocnění, porucha imunity a podobně

3) **Obligátně (primárně) patogenní** jsou mikroby, které vyvolávají nemoc vždy, když se setkají s makroorganismem. Toto "vždy" je ale tak trochu relativní (záleží na počtu mikrobů, způsobu, jakým se člověk s mikrobem setká, apod.). Přesto by se dalo říci, že typickým výsledkem interakce potenciálního patogena s makroorganismem je jejich soužití (a infekce je spíše výjimečný stav), u obligátního patogena je naopak typickým výsledkem infekce, klidné soužití je prakticky vyloučeno.

Skutečných obligátně patogenních mikrobů je ze všech mikrobů vlastně velice málo.

Patogenita (ať už se týká obligátních nebo potenciálních patogenů) je podmíněna třemi vlastnostmi mikroba, které musí být splněny současně:

- 1) **Přenosnost** z hostitele (zdroje) na další organismus (osobu)
- 2) **Nakažlivost** – schopnost narušit obranu hostitele
- 3) **Virulence** – schopnost mikroba nějak poškodit hostitele .

1.2.3 Faktory zodpovědné za virulenci, respektive patogenitu

1. Ty, které se podílejí na kontagiozitě – přenosnosti, tedy na **kolonizaci hostitele**: řasinky (latinsky pili či fimbrie), bičičk, různé další tzv. adheziny. Bičička umožňuje pohyblivost bakterií.

2. Ty, které se podílejí na invazivitě, tj. u některých mikrobů zabezpečí **invazi** (vniknutí mikroba do tkání). Jsou to různé enzymy, štěpící vazivo, faktory, zabezpečující virům a některým bakteriím vstup přímo buněk aj.

3. **Toxiny** (jedy), které bakterie (případně houba či prvok – viry jsou „na to moc malé“) produkuje navenek. Důležité z nich jsou zejména:

- **Neurotoxin**, které ovlivňují nervovou soustavu. Například tetanický toxin působí křeče, botulotoxin naopak obnvy.
- **Enterotoxiny**, které působí ve střevě (výsledkem je průjem, popř. i zvracení).
- **Místní (lokální) toxiny**, které nepůsobí v celém organismu, ale jen místně ve tkáni.
- Zvláštním případem je tzv. **endotoxin**, což není volná molekula, ale povrchová struktura gramnegativních bakterií. Uplatní se zpravidla až po rozpadu bakterie ("Pravé" toxiny, uvolňované bakteriemi do prostředí, se někdy označují jako exotoxiny).

V některých případech působení mikroba vůbec nemá charakter nákazy (infekce), nýbrž se vlastně jedná o toxikózu (otravu jedem): do organismu nevnikne mikrob, ale jen jeho toxin. Tak tomu je např. u botulismu, stafylokokové enterotoxikózy apod.

4. Faktory, které se podílejí na **boji s obrannými mechanismy hostitele**: např. pouzdra (kapsuly), které zabraňují pohlcení mikroba buňkou hostitele, různorodost variant mikroba (u chřipky) aj.

1.2.4 Planktonická forma života a biofilm

Hovoříme-li o virulenci mikroba, nesmíme zapomenout na schopnost mikrobů tvořit tzv. **biofilm**.

Biofilm není výsadou klinicky významných mikrobů – biofilm byla ta slizká vrstva na kameni, po které jste uklouzli v rybníce, nebo to, co musí akvaristé pravidelně drhnout ze stěn akvária.

Biofilm je vysoce organizovaný strukturovaný útvar, složený nejen z mikrobů (většinou většího počtu druhů), ale i z hmot těmito mikroby produkovaných. Biofilm jako celek je daleko odolnější vůči vnějším vlivům, ať už fyzikálním, chemickým (včetně antibiotik) nebo biologickým. Je-li biofilm tvořen běžnou bakteriální mikroflórou, chrání organismus před vpádem patogenů.

Naopak tvoří-li biofilm patogen, stává se léčba takové infekce mnohem obtížnější než kdyby mikroby nebyly v biofilmu (opakem biofilmu je takzvaná **planktonická forma** života).

Velmi důležitým příkladem biofilmu je biofilmu v ústní dutině, zejména na zubech (zubní plak).

1.3 Průběh infekčního procesu a faktory, které se na něm podílejí

V této části nás nebudou zajímat mikroby samotné, ale vztah (interakce) mezi mikrobem (mikroorganismem) a hostitelským organismem (makroorganismem). Hostitelským organismem může být člověk, zvíře, případně i rostlina, ale v dalším textu se samozřejmě pod pojmem „hostitelský organismus“ nebo „makroorganismus“ rozumí tělo nakaženého pacienta.

1.3.1 Vstupní brána infekce

je pojem, který označuje místo, kudy mikrob do těla pronikl. Málokdy je to kůže, mnohem častěji různé sliznice, včetně sliznice dutiny ústní. Těsně souvisí s cestou přenosu nákazy.

1.3.2 Forma infekce

1.3.2.1 Podle rozsahu poškození hostitelského organismu:

lokální (omezená na jednu sliznici, tkáň orgán)

celková (systémová, celotělová)

1.3.2.2 Podle vyjádření příznaků:

1.3.2.2.1. **bezpříznaková** (asymptomatická, inaparentní)

1.3.2.2.2. **příznaková** (symptomatická):

- **abortivní průběh:** nemoc proběhne, ale namísto typických příznaků dojde jen k nespecifickým celkovým („chřipkovým“) příznakům – teplota, svalové bolesti apod.
- **typický průběh** („učebnicový“)
- **komplikovaný průběh** (těžší, než obvykle, resp. kromě obvyklých příznaků i např. přechod na další orgány a podobně)
- V průběhu infekce může dojít k **superinfekci** jiným mikrobem. Může také dojít ke **koinfekci** dvěma různými mikroby.

1.3.3 Vylučování mikrobů z těla

se u místních infekcí děje zpravidla jen jedním způsobem (u dýchacích infekcí vzduchem, u střevních stolicí apod.), u celkových se způsoby kombinují a zpravidla se mění v průběhu infekce. U některých nemocí jsou mikroby vylučovány z těla už v inkubační době, kdy na pacientovi ještě není nemoc patrná. Jindy naopak pacient je klinicky nemocen, ale již nevylučuje původce a tudíž pro své okolí není nebezpečný.

1.3.4 Výsledek infekce

- **Úplné uzdravení:** nejčastější výsledek, hlavně u běžných (banálních) infekcí
- **Uzdravení s následky:** někdy samotná infekce pomine, zanechá však trvalé následky. Například po některých nervových infekcích dochází k nevratnému poškození mozku, ačkoli mikrob sám už není v těle přítomen.
- **Přechod do chronicity:** z akutní infekce se stá dlouhodobá až trvalá. Mohou být různé formy chronicity, projevy onemocnění mohou být stejně intenzivní jako v akutní fázi, anebo naopak jen mírné či žádné.
- **Úmrtí:** i dnes stále lidé na infekce někdy i umírají. Stává se také, že infekce má na svědomí konečné zhoršení neinfekční primární choroby, takže infekce je sice bezprostřední příčinou smrti, avšak bez primární nemoci by ke smrti nedošlo.

1.3.5 Co ovlivňuje formu infekce

- **faktory na straně mikroba:** zejména vybavenost jednotlivými faktory virulence – je u každého mikrobiálního kmene jiná. Například u meningokoků platí, že musí jít o tzv. klonální kmen, aby mohl napadnout člověka. Naproti tomu kmeny, nalézané u zdravých osob v krku (uvádí se, že jde až o 10 % populace) mezi klonální zpravidla nepatří.
- **faktory na straně makroorganismu:** stav imunity, stav anatomických bariér – kůže, sliznice (např. zda není oslabena kouřením), stav funkčních mechanismů – kýčání, střevní peristaltika, vypuzování mikrobů z močové trubice proudem moče). Může jít i o to, zda se tělo nenachází ve stavu celkového vyčerpání – toho zneužívají např. meningokoky
- **faktory týkající se setkání mikroba a makroorganismu:** za jakých okolností k němu došlo, jakou infekční dávkou a podobně. Salmonela například není nebezpečná, pokud se nepomnoží a nedosáhne tak dostatečné infekční dávky.

Téma 2 Přehled mikrobiologických vyšetřovacích metod

2.1 Cíle a základní rozdělení mikrobiologických metod.

Pojmy kmen a vzorek

2.1.1 Cíle mikrobiologické diagnostiky

2.1.1.1 Odhalení původce nemoci

Mikrobiologická diagnostika (tedy práce laboratoře klinické mikrobiologie) směřuje k odhalení původce nemoci. Skutečného původce je přitom často potřeba odlišit od **běžné flóry** – tedy mikrobů (hlavně bakterií), které se v některých tělních dutinách vyskytují normálně, od **náhodného nálezu**, který se např. do úst zatoulal s potravou, a také od **kontaminace**, tedy od mikrobů, které se do vzorku připletly omylem cestou. Toto odlišení probíhá částečně v laboratoři a částečně na klinickém pracovišti.

2.1.1.2 Určení citlivosti na antimikrobiální látky

V některých případech (u většiny bakterií a kvasinek, ne však u ostatních mikrobů) existuje vedle určení původce další úkol – **určení "in vitro" citlivosti** na antimikrobiální látky. "In vitro" citlivost (doslova „ve skle“, tedy určená v laboratoři) ovšem o skutečné **"in vivo" citlivosti** v organismu pacienta vypovídá jen částečně. Je to dáno mimo jiné tím, že v laboratoři se mikroby chovají poněkud jinak než ve tkáních.

2.1.1.3 Určení faktorů virulence

Do třetice – jsou případy, kdy je nutné určení faktorů virulence, neboť samotný nález mikroba je nevýznamný, ale důležitý je např. **nález jeho toxinu**, nebo důkaz, že jde o opouzdřený kmen. Příkladem je například *Clostridium difficile*, bakterie, která je přítomna ve střevě i zdravých lidí. Mnohem důležitější než nález samotné bakterie je tedy nález významného množství jejího toxinu. V řadě případů je také důležité určit velmi významnou schopnost mikroba, a to schopnost tvořit **biofilm**.

2.1.2 Pojmy vzorek a kmen

2.1.2.1 Vzorek

Vzorek je (v klinické mikrobiologii) to, co je odebráno pacientovi a přichází k vyšetření do laboratoře. Nejčastěji se do laboratoře posílá

- **kusový či tekutý materiál** ve zkumavce či jiné nádobce (krev, sérum, moč, mozkomíšní mok, sputum, šupiny, odštěpek kosti, stolice, kousek nehtu...)
- **stěr či výtěr** (z nejrůznějších tělních povrchů a otvorů) na vatovém tamponu, obvykle zanořeném do transportního média.

Odběrům vzorků (někdy se také používá pojem „vzorkování“) se věnuje kapitola 11.

2.1.2.2 Kmen

Kmen je čistá kultura („výpěstek“) jednoho druhu mikroba (obvykle bakterie nebo mikroskopické houby). Je to soubor jedinců, kteří mají stejné vlastnosti a zřejmě pocházejí z jediné buňky.

Mikrobiolog prakticky nemá možnost pracovat s **jedincem** jak jako zoolog či botanik: jedinec (jednotlivá bakterie či kvasinka) je příliš malý. Práce s kmenem mikrobiologům práci s jedincem nahrazuje. Zjišťovat například biochemické vlastnosti či tvorbu pigmentu u jedné buňky by bylo extrémně náročné. Použije-li se místo toho kmen, je to mnohem jednodušší

Kmen získáme ze vzorku kultivací na pevné půdě (s podmínkou správného rozočkování) – proto má tato metoda výsadní postavení zejména v diagnostice bakterií.

2.1.3 Přehled metod

Metody, kterými určujeme mikroby, si můžeme rozdělit na:

2.1.3.1 Metody přímé

Pomocí těchto metod **hledáme mikroba jako takového, jeho součást nebo jeho produkt** ve vzorku pacienta. Můžeme si je dále rozdělit:

2.1.3.1.1 Přímý průkaz ve vzorku. V tomto případě pracujeme s celým vzorkem. Je potřeba vzít v úvahu, že vzorek zpravidla obsahuje buňky makroorganismu a že předem nevíme, kolik různých druhů mikrobů je ve vzorku obsaženo – nemusí tam být žádné, ale může jich být v extrémních případech i několik desítek. Taková situace samozřejmě znemožňuje použití některých diagnostických metod. Můžeme to přirovnat k tomu, že dveře od posluchárny také těžko může využít kriminalista k hledání otisku prstů jednoho studenta.

2.1.3.1.2 Práce s kmenem. V řadě případů nelze pracovat s celým vzorkem – potřebujeme získat **kmen**. Pokud máme k dispozici kmen a určujeme jeho vlastnosti, hovoříme o **identifikaci kmene** mikroba. Některé metody identifikace jsou tytéž, které se používají i k přímému průkazu ve vzorku (např. mikroskopovat se dá jak celý vzorek, tak i kmen). Jiné metody se naopak používají pouze k identifikaci, avšak nikoli k přímé práci se vzorkem (příkladem je biochemická identifikace, která se dá uplatnit pouze máme-li k dispozici čistou kulturu mikroba, tedy kmen).

2.1.3.2 Metody nepřímé

Těmito metodami **hledáme odezvu imunitního systému pacienta na mikroba**. V naprosté většině případů hledáme **protilátky**. Rozdíl oproti přímému průkazu je v tom, že protilátka není součástí ani produktem mikroba – je produktem organismu pacienta. Protilátka ovšem vzniká pouze a jedině tehdy, když je imunitní systém „drážděn“ přítomností mikroba, přesněji – přítomností jeho určité struktury, které říkáme **antigen**. Má-li někdo v těle protilátky proti klíšťové encefalitidě, musel se setkat buď s celým virem, nebo alespoň s jeho antigenem (druhá možnost připadá reálně v úvahu jen při očkování). Nevýhodou nepřímých metod ale je, že nejsou důkazem toho, že je mikrob v těle právě přítomen – **svědčí jen o tom, že se s ním (nebo s jeho antigenem) tělo někdy setkalo** (mohlo to být před dvěma týdny, ale třeba i před deseti lety).

Kromě průkazu protilátek patří do nepřímého průkazu také průkaz buněčné specifické imunity (např. u tuberkulózy).

2.2 Metody přímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

PŘEHLED METOD PŘÍMÉHO PRŮKAZU		
Název metody	K průkazu ve vzorku	K identifikaci kmene
Mikroskopie	ano	ano
Kultivace (pěstování na půdách)	ano	ano
Biochemické a jim podobné identifikační metody	ne	ano
Pokus na zvířeti	ano	lze použít, ale nedělá se to
Průkaz antigenu/antigenní analýza	ano	ano
Průkaz nukleové kyseliny	ano	lze použít, běžně se nedělá

2.2.1 Mikroskopie

V mikrobiologii se používá téměř výhradně **světelná mikroskopie**. Pouze u virů se někdy využije **elektronová mikroskopie** (viry jsou příliš malé, v optickém mikroskopu nejsou viditelné). Reálně se ale ani u virů elektronová mikroskopie běžně nevyužívá, spíše jen ve výzkumu. Další text se tedy týká jednotlivých typů světelné mikroskopie

2.2.1.1 Nativní preparát

Nejjednodušší druh mikroskopie: mikroby se pozorují **neobarvené**, jen rozmíchané v kapce fyziologického roztoku a přikryté krycím sklíčkem. Zůstávají živé a pokud jsou pohyblivé, můžeme pozorovat jejich pohyb. Pro bakterie, které jsou poměrně malé, je nativní preparát vhodný

právě jen v případě, že jsou **pohyblivé** (lidské oko snáze pozoruje pohybující se objekty). Nativní preparát se také hodí pro houby a parazity, protože jejich buňky jsou dostatečně **velké**.

2.2.1.2 Mikroskopie v zástínu

Je to zvláštní druh nativního preparátu, světlo na preparát dopadá zešikma a do oka dopadnou pouze ty paprsky, které se na preparátu zlomí. Hovoří se také o „mikroskopii v temném poli“.

2.2.1.3 Barvené preparáty

Preparáty, které mají být nějak obarvené, musí být nejprve **vysušeny** a poté **zfixovány**. Poté se barví. Mikrobiologové provádějí nejčastěji **Gramovo barvení**. Rozliší bakterie podle typu **buněčné stěny** na tzv. grampozitivní a gramnegativní; špatně nebo vůbec se obarví bakterie, které buněčnou stěnu nemají nebo mají stěnu zvláštního typu. Pro ty se pak používají jiná barvení (na původce tuberkulózy například Ziehl-Neelsenovo). Zvláštní barvení se také používají u parazitů (Giemsovo barvení, barvení Gomoriho trichromem).

Schéma nejběžnějšího, tedy Gramova barvení uvádí následující tabulka:

Chemikálie	Čas (s)	Jak reaguje grampozitivní bakterie	Jak reaguje gramnegativní bakterie
Violeť	20–30	Obarví se na fialovo	Obarví se na fialovo
Lugolův r.	20–30	Upevní se vazba barviva na stěnu	Vazba barviva na stěnu se neupevní
Alkohol	15–20	Neodbarví se	Odbarví se
Safranin	60–120	Nanejvýš trochu změní odstín	Obarví se na červeno

Výsledkem tedy je, že grampozitivní bakterie jsou modrofialové, gramnegativní červené a Gramem se nebarví bakterie se vůbec neobarví. Modrofialově se obarví také kvasinky. Pokud Gramovo barvení použijeme k obarvení vzorku, vidíme i leukocyty, epitelie a další útvary. Cytoplasma těchto buněk se zpravidla barví růžově, jádra červenofialově nebo fialově. Různá **speciální barvení** se používají např. na tuberkulózu, na plísň, některé parazity apod. Ke speciálním účelům se používá **fluorescenční barvení**.

2.2.1.4 Interpretace mikroskopie

Jak již bylo řečeno, použijeme-li mikroskopii k barvení **vzorku**, nevidíme jenom mikroby samotné, ale také různé jiné věci, například epitelie a leukocyty makroorganismu. Jejich přítomnost není pro mikrobiologa na obtíž, naopak je využívá při hodnocení (například obsahuje-li vzorek velké množství tzv. polymorfonukleárních leukocytů, je velmi pravděpodobné, že jde o bakteriální zánět). Samozřejmě, je-li mikroskopie použita k **identifikaci**, vidíme už jenom buňky mikroba.

2.2.2 Kultivace

Je to vlastně **pěstování mikrobů**. U virů se používá pro tuto metodu pojem *izolace*.

2.2.2.1 Základní pojmy

Kultivace se v praxi zpravidla provádí na umělých půdách. Většinou se při kultivaci mikroby rozmnoží. Mikroskopie je sice nejklassičtější mikrobiologickou metodou, avšak kultivace je zdaleka nejdůležitější (alespoň v případě bakterií a kvasinkovitých hub). Její význam spočívá především v tom, že umožňuje ze **vzorku** (obsahujícího často směs mikrobů a téměř vždy buňky pacienta) izolovat čistý **kmen** ve formě tzv. **kolonií**. To ovšem platí jen pro tzv. **pevné půdy**. Důležité jsou ale i **půdy tekuté**, sloužící zejména k pomnožení mikrobů tam, kde jich bylo získáno málo.

Kmen, jak již bylo řečeno, je populace mikrobů, vzešlá z jedné buňky, bez ohledu na momentální konkrétní formu. Všichni jedinci v rámci kmene mají stejné vlastnosti.

Kolonie je označení konkrétního útvaru, který bakterie a kvasinky vytvářejí při kultivaci na pevných půdách. Teoreticky (a někdy i prakticky) je to potomstvo jedné jediné buňky, uchycené na povrchu pevné půdy. U většiny mikrobů vyroste za den. Pokud odtud mikroba přemístíme, přestává být kolonií, zůstává však kmenem.

Kultivační podmínky zahrnují teplotu, vlhkost, složení atmosféry a podobně. Zpravidla se laboratoř snaží vytvořit mikrobům podmínky blízké těm, které jsou v organismu.

2.2.2.2 Tekuté půdy

jsou půdy sloužící především k pomnožení bakterií z málo početných vzorků. Nejdůležitější je:

Peptonová voda – obsahuje bílkovinný hydrolyzát (to jest: produkt rozkladu bílkoviny na aminokyseliny a polypeptidy). Samotná se používá zředěná, je však mezistupněm k další:

Bujón (masopeptonový bujón) je peptonová voda s vývarem. Je to základní pomnožovací půda, běžně používaná v laboratoři hlavně tam, kde předpokládáme malé množství mikrobu, jež chceme namnožit (před vyočkováním na pevné půdy).

VL-bujón je bujón s přidáním kvasnic (francouzsky *viande-levure* = maso-kvasnice). Hodí se pro anaeroby. Aby se mikroby při kultivaci nedostaly do styku se vzdušným kyslíkem, přelévá se VL-bujón při kultivaci vrstvou parafinového oleje.

Selenitový bujón je příkladem půdy **selektivně pomnožovací**. Taková pomnoží jen některé mikroby – v případě selenitového bujónu salmonely (a několik dalších rodů).

2.2.2.3 Pevné (většinou agarové) půdy

Jsou to půdy, jejichž základem je zpravidla **živý agar** – to je bujón, do kterého je přidán výtažek agarové řasy. Tím se stane, že z tekutiny se stane hmota připomínající pudink nebo želatinu. Fyzikálně vzato je to ovšem pořád tekutina: jakákoli chemická látka, kterou umístíme na povrch agarové půdy, začne touto půdou poměrně rychle pronikat (difundovat).

Na agarových půdách je báječná jedna věc: bakterie (a také kvasinky) na nich tvoří kopečky, kterým říkáme **kolonie**. Každý druh bakterie tvoří na konkrétní půdě specifické kolonie charakteristické velikosti, barvy, tvaru apod., což velmi usnadňuje diagnostiku.

Jedna kolonie zpravidla vyrůstá z jedné bakterie, nanejvýš z jedné dvojice, jednoho řetězku, jednoho shluku. (Používá se tu anglický termín **CFU** = colony forming unit = jednotka tvořící kolonii). Z toho také logicky vyplývá, že pokud na agarovou půdu naočkovujeme směs dvou bakterií, a pokud tato směs není příliš hustá, vytvoří každý z těchto druhů své vlastní charakteristické kolonie. Ty pak můžeme přeočkovat (= odebrat a nechat znovu kultivovat) a různými metodami identifikovat.

Samotný živý agar se v praxi většinou nepoužívá. Když už se totiž v laboratoři vaří agarová půda, vždycky se do ní přidává něco, co usnadňuje rozpoznání jednotlivých druhů.

U kolonií se dají popisovat různé znaky – velikost, barva, tvar, zápach a podobně.

2.2.2.4 Rozdělení pevných půd podle účelu

Diagnostické půdy jsou takové, na kterých "roste kdeco, ale každé jinak". Jinak řečeno – určitá vlastnost bakterie se projeví na vzhledu kolonie. Do této skupiny patří i půda, která je mezi klinickomikrobiologickými půdami úplně nejdůležitější:

Krevní agar je živý agar s přidáním ovčích červených krvinek. Využívá se toho, že patogenní druhy bakterií většinou rozkládají červené krvinky (úplná nebo neúplná beta-hemolýza) nebo aspoň mění červený hemoglobin na zelené barvivo (viridace, někdy také alfa-hemolýza). Méně patogenní druhy krvinek nemění (žádná hemolýza, také "gamma-hemolýza").

VL-agar je pozměněný krevní agar pro anaerobní bakterie.

Chromogenní agary jsou moderní půdy, které obsahují tzv. chromofory. Chromofor je látka, která by byla barevná, kdyby na ni nebyl navázán specifický substrát. Pokud bakterie či kvasinka substrát odštěpí, chromofor přestává být bezbarvý a kolonie se intenzivně zbarví. Chromofory mohou mít po odštěpení různé barvy a v půdě jich může být několik, s různými navázanými substráty. Tak lze chromogenní půdou rozlišit i přes deset různých bakterií či kvasinek, použijeme-li substráty dostatečně specifické pro dané druhy.

Selektivní půdy jsou takové, na kterých "roste jenom něco". (Podobně jako u tekutých, selektivně pomnožovacích půd). Patří sem např.:

Krevní agar s 10 % NaCl – je selektivní pro stafylokoky. Ostatní klinicky významné bakterie tak vysokou koncentrací NaCl nesnášejí. Je to logické – stafylokoky žijí na (zpotené) kůži.

Poznámka: I když tato půda obsahuje krev, není diagnostická, nelze na ní sledovat hemolýzu. Je tomu tak proto, že je hyperosmolární a tudíž krvinky jsou na ní částečně rozloženy i bez přispění bakterie.

Selektivně diagnostické půdy v sobě spojují vlastnosti obou předchozích. Jinak řečeno, jedny bakterie na nich nerostou, druhé bakterie rostou v určitých koloniích a další zase v koloniích jiného vzhledu.

Endova půda má svoji *selektivní vlastnost*. Ta spočívá v tom, že na ní rostou pouze gramnegativní (G-) růstově nenáročné bakterie. Má ale také *diagnostickou vlastnost*. Bakterie, které štěpí laktózu, na ní mají tmavočervené kolonie a tmavočervená je i půda v okolí kolonií. Laktózu neštěpící bakterie tvoří kolonie bledé. Půda samozřejmě obsahuje laktózu, a také – což je příčinou popsaného jevu – obsahuje indikátor (Schiffovo činidlo).

Půdy XLD a MAL se používají k diagnostice salmonel.

Obohacené půdy jsou bohaté na živiny. Jsou určeny k pěstování náročných bakterií, které hned tak na něčem nevyrostou – například hemofily nebo původce kapavky.

Čokoládový agar je vlastně krevní agar zahřátý asi na 80 °C. Přestože se do něj oproti krevnímu agaru nic nepřidává, je obohacený tím, že různé látky z krvinek v něm volně plavou a jsou tedy pro bakterie mnohem lépe dostupné.

Levinthalův agar je přefiltrovaný čokoládový agar. Je téměř bezbarvý, přesto je funkčně hodně podobný předchozímu.

Speciální půdy mají své zvláštní určení.

Müllerův-Hintonové agar je určen k testování citlivosti bakterií in vitro na antibiotika.

2.2.2.5 Jak se kultivuje na pevných půdách

Na povrch půdy **naneseme část vzorku** nebo několik kolonií z předchozí kultivace.

Bakteriologickou klíčkou toto místo **"roztaháme" (rozředíme) po celé misce**.

Nyní misku **umístíme do termostatu**, většinou při 37 °C (lékařsky významným bakteriím tato teplota zpravidla vyhovuje). Většinou kultivujeme 16–28 hodin (tedy do druhého dne), někdy ale déle (dva, tři i více dní). Po vyjmutí vidíme na misce kolonie, které můžeme popisovat nebo s nimi provádět další identifikační pokusy.

2.2.3 Biochemická identifikace

je založena na skutečnosti, že každý druh bakterie produkuje jinou sestavu enzymů. Především tu jde o enzymy určené ke štěpení různých substrátů (nejčastěji cukrů). A tak třeba máme bakterii, která třeba umí rozštěpit (pomocí příslušných enzymů) maltózu a sacharózu, ale ne trehalózu, a jinou, která umí štěpit sacharózu a trehalózu, ale ne maltózu. Kombinace vhodného počtu znaků může určit bakterii nejen na úroveň rodu, ale často i druhu.

2.2.3.1 Princip biochemických identifikačních testů

je tedy takový, že bakteriím je předložen **substrát** (substráty). Pokud bakterie produkuje **enzym** (enzymy), dojde k přeměně substrátu (substrátů) na **produkt** (produkty). V případě, že se produkt(y) liší od substrátu(-ů) barvou, skupenstvím apod., můžeme změnu přímo pozorovat. Pokud změna není viditelná, musí být v reakci přítomen **indikátor**. Nelze-li indikátor mít v reakci od začátku (třeba proto, že by v jeho přítomnosti proběhla špatně nebo neproběhla vůbec), přidává se až po proběhlé reakci ve formě **čínidla**.

2.2.3.2 Katalázová reakce

je velmi jednoduchá biochemická reakce, založená na průkazu enzymu katalázy (štěpí peroxid vodíku). Používá se k rozlišování rodů bakterií, např. stafylokoky jsou kataláza pozitivní, streptokoky kataláza negativní. **Provedení:** kolonie bakterie je smíchána s kapkou peroxidu vodíku. V případě positivity kapka šumí – vznikají bublinky kyslíku. Výhodou je, že výsledek je viditelný během několika vteřin. Indikátor není třeba (bublinky jsou viditelné).

2.2.3.3 Reakce na diagnostických proužcích (stripech).

Tyto reakce se také dají odečíst velmi rychle – během vteřin či nejpozději minut. Používá se *plastových diagnostických proužků*, jejichž reakční ploška se zvlhčí a přitiskne na kolonie testované bakterie. Po určité době (a někdy ještě po přikápnutí činidla) se pak sleduje, jestli na reakční plošce dojde k vývoji typického zbarvení (např. modrého, modrozeleného, červeného).

2.2.3.4 Testy ve zkumavkách

Jednoduché testy obsahují substrát (např. cukr) a indikátor. Do substrátu se vmíchá suspenze bakterie a inkubuje se přes noc. Když je reakce pozitivní, dojde k barevné změně; když je negativní, ke změně nedojde. **Složené testy** využívají vícesubstrátových směsí. Barevná změna pak může být např. jiná u hladiny (prstenec určité barvy) a jiná v hloubce.

2.2.3.5 Testy v plastové mikrotitrační destičce („panelu“)

V podstatě jde o **sérii miniaturizovaných jednoduchých zkumavkových testů**. Bez ohledu na konkrétní podobu jednotlivých destičkových testů (liší se podle výrobce, nové výrobky od starších apod.) je **princip** prakticky vždy stejný: na dně důlků jsou lyofilizované *substráty* (případně substráty s indikátorem), do důlků se přikápnou *suspenze bakterie* a destička se nechá *inkubovat* (obvykle přes noc). Poté se *hodnotí*, u kterých testů došlo ke změně barvy. Hodnotí se to *pouhým okem nebo automaticky* – čtecím zařízením na principu spektrofotometru. Hodnotí se zpravidla najednou 7–30 různých biochemických reakcí.

2.2.4 Pokus na zvířeti

Pokus na zvířeti býval důležitou součástí diagnostiky v začátcích mikrobiologie. Šlo tehdy i o to, prokázat, zda příslušný mikrob vůbec je původcem nemoci – naočkoval se tedy pokusnému zvířeti a čekalo se, zda také u zvířete propuknou příznaky podobné těm u pacienta.

V některých případech se podobně postupuje dodnes. Nejčastěji se používají **myši, morčata, potkani, králíci**. Význam pokusu na zvířeti klesá s rozvojem modernějších metod i s tím, jak si lidé stále více uvědomují, jak je jeho využívání eticky problematické.

Zvířata (hlavně hospodářská) se ovšem v mikrobiologické diagnostice uplatňují i jinak, např. jejich **séra** jsou zdrojem protilátek, z jejich krvinek se připravují krevní agary (nejčastěji s ovčími, ale i např. s hovězími či koňskými erytrocyty) apod.

2.2.5 Průkaz antigenu

Jedná se o metodu přímého průkazu, avšak způsob provedení je až na technické detaily v podstatě shodný s nepřímým průkazem (průkazem protilátek) – v obou případech se hovoří o tzv. sérologických reakcích. Ty budou proto probrány v další části diagnostiky.

2.2.6 Průkaz nukleové kyseliny

Průkaz nukleové kyseliny (většinou průkaz DNA, občas i RNA) je moderní metoda, která umožňuje identifikovat i malá množství mikrobů, mikroby usmrčené, nebo dokonce mikroby, u kterých se nezachovala kompletní buňka či virová částice. Někdy je ovšem tento zvýšený záchyt spíše na škodu. Navíc je to metoda pořád ještě hodně drahá a náročná. Používá se proto jen u mikrobů, u kterých klasické metody nelze použít, nebo jsou příliš pomalé.

Průkaz NA se dělí na **metody bez amplifikace** (klasické genové sondy) a **metody s amplifikací (namnožením) určité sekvence nukleové kyseliny**. Nejpoužívanější je dnes **polymerázová řetězová reakce (PCR)**. Podrobnější popis zde neuvádíme, neboť metoda se široce využívá i mimo mikrobiologii a naleznete ji tedy v jiných předmětech.

Je však alespoň potřeba říci, že metoda není ani „všelékem“ ani „moderní zbytečností“ – oba názory se občas vyskytují. Má své místo mezi ostatními metodami. Využívá se především u mikrobů, které nelze snadno diagnostikovat jinými metodami. Příliš se nehodí u mikrobů, které se běžně vyskytují v prostředí, takže by amplifikovaná DNA kontaminanty mohla vést k falešně pozitivním výsledkům.

2.3 Metody nepřímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

2.3.1 Základní pojmy

Poznámka: Kromě metod nepřímého průkazu v tomto textu naleznete z praktických důvodů i jednu z přímých metod – průkaz antigenu, respektive antigenní analýzu.

Tyto takzvané **sérologické metody** jsou metody pracující s reakcí **antigen – protilátka** (za vzniku komplexu). V užším slova smyslu se někdy za sérologické považují pouze ty reakce, kde se jako vzorek používá sérum, popřípadě reakce, kde se hledá protilátka.

Jednotlivé sérologické metody se od sebe liší pouze způsobem, jak je detekován komplex antigenu s protilátkou. Všechny se však dají použít ke všem účelům, dále uvedeným:

2.3.1.1 Průkaz antigenu pomocí protilátky

Použije se laboratorní protilátka (ze séra pokusného zvířete) a smíchá se

- buďto **se vzorkem pacienta**, ve kterém hledáme antigen – jde o **přímý průkaz antigenu**
- nebo **s kmenem**, vypěstovaným z pacientova vzorku – jde o **identifikaci kmene (antigenní analýzu kmene)** – většinou k určení antigenního typu (serotypu) bakterie

2.3.1.2 Průkaz protilátky pomocí antigenu

Použije se **laboratorní antigen** a smíchá se s **pacientovým sérem** (protilátky hledáme v séru)

2.3.1.3 Ve všech případech platí, že:

- pokud **vznikl komplex antigen-protilátka, je reakce pozitivní**
- pokud komplex nevznikl, je reakce negativní (něco v ní chybí; to, co dodala laboratoř, určitě nechybí, chybí tedy to, co „měl dodat pacientův vzorek“)

2.3.2 Přehled sérologických metod

- Precipitace
- Aglutinace
- Komplementfixační reakce (KFR)
- Neutralizace
- Reakce se značenými složkami:
 - Imunofluorescence (IMF)
 - Radioimunoanalýza (RIA)
 - Enzymová imunoanalýza (EIA, ELISA)
 - Imunoblotty

2.3.3 Nespecifické antigeny a heterofilní protilátky.

U většiny serologických reakcí se pracuje se **specifickými antigeny** – například s antigenem spalniček u protilátek proti spalničkám, se stafylokokovým antigenem u protilátek proti stafylokokům apod. Někdy je ale výhodné při nepřímém průkazu použít místo skutečného mikrobiálního antigenu nějakou levnější a bezpečnější látku, o které je známo, že je také schopna vázat příslušnou protilátku: používají se např. červené krvinky všelijakých zvířat při průkazu infekční mononukleózy (Paul-Bunnellova reakce). Hovoří se pak o **nespecifickém antigenu**. Tyto reakce ale většinou bývají méně specifické a je potřeba je ještě potvrdit.

Někdy se také prokazují protilátky, které nejsou namířeny přímo proti mikrobu, ale proti nějaké molekule, která se uvolňuje z tkání změněných infekcí. Takovou látkou může být například kardiolipin – extrakt z hovězích srdcí při průkazu syfilis. Protilátky, které se s takovým nemikrobiálním antigenem spojují, se označují jako **heterofilní protilátky**.

V obou jmenovaných případech se tedy dvojice antigen – protilátka neshoduje s „normální“ dvojicí (mikrobiální antigen – protilátka proti mikrobiálnímu antigenu), i když z různých důvodů.

2.3.4 Jak zjistit u nepřímého průkazu, jestli se jedná o probíhající infekci, nebo o infekci, které proběhla dříve?

Zatímco přímý průkaz (včetně průkazu antigenu a antigenní analýzy!) vždy dokazuje přítomnost mikroba, u nepřímého průkazu tomu tak není. **Přítomnost protilátek pouze svědčí o tom, že se organismus někdy s mikroben setkal**. Přesto je možné aspoň s určitou pravděpodobností říci, jestli se o čerstvou infekci jedná, nebo jestli jsou protilátky nalezené v séru pacienta jen následkem infekce překonané dříve. Je potřeba využít některého z následujících tří způsobů:

Zištujeme, jaké je množství protilátek v séru a jestli se mění. Využívá se toho, že v akutní fázi infekce množství protilátek prudce stoupá, pak zase klesá, a nakonec se udržuje na stálé, nízké hladině. Je ovšem těžké zjistit množství protilátek v séru absolutně (v gramech, v molech). Logicky ale - pokud je v séru hodně protilátek, můžeme takové sérum mnohonásobně zředit a pořád ještě bude reagovat s antigenem. Pokud je protilátek málo, bude reagovat jenom neředěné či málo ředěné sérum. Proto se připravují různá ředění séra (většinou geometrickou řadou: 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80 atd.) a všechna se míchají s antigenem. Tím získáme číslo zvané **titr**, které udává, kolikrát se dá sérum zředit, aby ještě reagovalo s antigenem. Důležitý ale nebývá samotný titr, ale jeho **změna během dvou či tří týdnů**. Pokud během se během této doby titr zvýší aspoň čtyřikrát (= o dvě ředění, například z 20 na 80), jde velmi pravděpodobně o akutní infekci. Pouhé dvojnásobné zvýšení (= o jedno ředění) může být náhodné.

Zištujeme, k jaké třídě patří nalezené protilátky – to ovšem umožňují pouze reakce se značenými složkami. Převaha třídy IgM nad třídou IgG svědčí pro akutní infekci

Zištujeme tzv. aviditu, to je síla vazby protilátky na antigen. Čerstvé protilátky (u akutní infekce) bývají nízkavidní, „ještě se neumějí vázat na antigen příliš silně“. Tato metoda je poměrně nová a zatím ještě není zcela běžně používána.

Poznámka: *Mlčky jsme předpokládali infekci, která akutně proběhne, a pak už jen zanechá trvalou „imunologickou paměť“.* Některé infekce však přecházejí do chronicity, nebo se stávají infekcemi skrytými (latentními) a mohou se probouzet k životu. V takových případech je průběh imunitní odpovědi složitější, nad rámec možností tohoto textu, navíc je velmi různorodý.

2.3.5 Precipitace a aglutinace

2.3.5.1 Princip precipitace a aglutinace

Precipitace a aglutinace jsou nejjednodušší metody, protože kromě antigenu a protilátky už v systému nemusí být nic jiného. Bývají ale méně přesné a dají se použít jen v některých případech. Komplex se projeví sám jako sraženina (precipitát nebo aglutinát).

Rozdíl mezi precipitací a aglutinací spočívá v tom, že u **precipitace** je *antigen povahy koloidní* (jako antigen vystupují jednotlivé makromolekuly, tedy skutečně jednotlivé antigenní determinanty), kdežto u **aglutinace** je *antigen povahy částicové – korpuskulární* (jako antigen vystupují větší částičky, například celé bakterie – jde tedy o antigenní determinanty vázané na povrch větší částice).

2.3.5.2 Aglutinace na nosičích

je zvláštní případ, vlastně precipitace převedená na aglutinaci. Používá se tam, kde máme koloidní antigen, ale potřebovali bychom korpuskulární. Řeší se to tak, že antigen navážeme na vhodnou částici. Jako částice se používají *latexové částice* - pak se jedná o latexaglutinaci nebo *červené krvinky* – pak se jedná o hemaglutinaci (např. TPHA na syfilis).

2.3.6 Komplementfixační reakce (KFR)

je mnohem složitější než precipitace a aglutinace. Používá se při ní komplement, což je **přirozená složka humorální nespecifické, ale vlastně i specifické imunitní reakci**. Každé sérum obsahuje komplement. Pro komplementfixační reakci se ovšem nedá použít vlastní komplement pacienta, protože jeho množství je nejisté. Proto **se vlastní pacientův komplement před reakcí inaktivuje** (teplem při 56 °C/ 30 min), **a do reakce se přidává komplement morčecí**. Kompletní princip reakce zde neuvádíme, je příliš složitý. Kromě morčecího komplementu zahrnuje i přidání beraních erytrocytů a králíčích protilátek proti nim. Ty tvoří tzv. indikátorový systém. V podstatě jde o to, že pokud se komplement nevyváže na testovaném komplexu (protože hledaná složka chybí), vyváže se na indikátorovém systému a beraní erytrocyty jsou rozrušeny (říkáme, že dojde k hemolýze). V případě pozitivní reakce se komplement vyváže na testované reakci a nezbude žádný pro reakci indikátorovou. K hemolýze tedy nedojde.

KFR je běžně používaná **zejména ve virologii**, případě též v diagnostice hub a parazitů, méně často i bakterií. Ve virologii je to jedna z nejběžnějších metod u většiny běžných virů.

2.3.7 Neutralizační reakce.

2.3.7.1 Princip neutralizační reakce

V případě **virů**, které jsou malé, protilátka kromě různých dalších mechanismů účinku působí i přímo: virus má zásluku na nějakou buňku či krvinku, které by rád provedl nějakou „nepřechu“ (u krvinek např. hemolýzu nebo hemaglutinaci), ale protilátka mu v tom zabrání. **Bakterie** jsou příliš velké na to, aby je mohla protilátka přímo inaktivovat. Co však protilátka nezmůže s bakteriemi, zmůže s jejich toxiny.

Neutralizační reakce se tedy používají nejčastěji ve **virologii**. Dají se použít také v **bakteriologii**, ale většinou jenom v případě, že bakterie produkuje nějaký toxin; neutralizováno je působení toxinu, nikoli působení samotné bakterie. Výjimkou může být např. neutralizace pohyblivosti bakterie (u jedné ze starších diagnostických reakcí u syfilisu).

Antigenem v neutralizační reakci je tedy zpravidla **virus** nebo **bakteriální toxin**.

2.3.7.2 Některé příklady neutralizací

ASLO – antistreptolysin O. Prokazujeme protilátku proti streptokokovému toxinu. V tomto výjimečném případě nám nejde ani tak o toxin, ale o protilátku jako takovou – ona totiž často nespecificky reaguje s endokardem či ledvinnými glomeruly, vedouc tak k revmatické horečce či glomerulonefritidě. Antistreptolysin O neutralizuje lýzu červenýchrvinek, kterou by normálně provedl streptolysin O: to znamená, že v případě pozitivity (protilátka JE přítomna) nedojde k hemolýze, v případě negativity (protilátka NENÍ přítomna) k hemolýze dojde.

Hemaglutinačně inhibiční test a **virusneutralizační test** se používají ve virologii, i když jejich význam klesá s rozvojem jiných metod.

2.3.8 Reakce se značenými složkami

2.3.8.1 Princip reakcí se značenými složkami

Principem těchto reakcí je nepřerušovaný řetězec, jehož články jsou antigeny a protilátky; ne vždy je to jen jeden antigen a jedna protilátka. Řetězec začíná nějakým pevným povrchem (sklíčko, dno důlku) na který se naváže některá složka reakce, a končí – v pozitivním případě – nějakým "značidlem", které pak může být detekováno. Poslední složka, na kterou je "značidlo" navázáno (nakonjugováno – bývá to obvykle protilátka), se zpravidla označuje jako **konjugát**. V případě negativním jeden článek řetězku chybí, a proto všechny další, nejsou pevně svázány s povrchem, mohou být – a také jsou – vyplaveny při takzvaném "promývání". Promývání se dělá po každém novém kroku. Tímto způsobem nakonec skončí ve výlevce i to "značidlo". Jako „značidla“ se používají:

Fluorescenční barvivo. V takovém případě je povrchem zpravidla podložní sklíčko a výsledný efekt je detekován prostřednictvím fluorescenčního mikroskopu. Výhodou je, že vidíme např. tvar bakterie. Hovoříme o **imunofluorescenci**.

Radioizotop. V tom případě se efekt pozoruje pomocí vhodného přístroje k detekci radioaktivity. Metoda je náročná, vyžaduje laboratoř vybavenou pro práci s radioaktivním materiálem. Používá se dnes poměrně málo. Metoda se nazývá **radioimunoassay** či **radioimunoesej**, zkráceně **RIA**

Enzym. V tom případě musí následovat ještě **další fáze, ve které se přidá substrát reakce**. Pokud je "značidlo" v podobě enzymu přítomno, dojde k rozštěpení substrátu na produkt, který se buďto liší barvou, nebo jej lze identifikovat s využitím **indikátoru**. Povrchem tu bývá dno důlku v panelu a celá reakce se dá snadno automatizovat: čím silněji reakce proběhla, tím intenzivnější je barevná změna, a tato intenzita barevné změny je měřitelná jako absorbance ve spektrofotometru. Nejběžnější variantou této reakce je reakce **ELISA** – je to zkratka a znamená **enzym linked immuno sorbent assay**. ELISy se postupně staly standardními vyšetřovacími metodami u velkého množství mikroorganismů, nahradily starší a méně přesné metody.

2.3.8.2 Imunoblotty

jsou vlastně speciálním případem reakce ELISA. Od klasické ELISy se výrazně liší **metodou přípravy antigenu**.

U klasické ELISy se prostě použije celý mikrob, a s ním pak mají možnost reagovat všechny protilátky, které jsou kompatibilní s kterýmkoli z antigenů, který se na povrchu mikroba nalézá. Takových antigenů tam může být mnoho.

Někdy je ale výhodné **pracovat se skutečnými jednotlivými antigeny**. Je to především tehdy, kdy máme několik příbuzných mikrobů, které mají některé antigeny shodné a jiné odlišné.

Imunoblotová technika nám umožní antigeny navzájem oddělit a dopídit se zjištění, který z nich vlastně reagoval.

Antigeny jsou *uvolněny z povrchu mikroba, rozděleny elektroforézou podle své hmotnosti* a pak, opět elektroforeticky, *přeneseny na speciální fólii*. V tu chvíli pak začnou fungovat jako "běžný" antigen v reakci ELISA, dále už je to tedy všechno stejné.

Metoda se používá například u borrelií – existuje jich několik druhů, které jsou antigenně příbuzné, ale ne totožné.

2.3.8.3 Imunochromatografické reakce

se od ostatních reakcí se značenými složkami liší tím, že **neobsahují promytí**. Místo toho jednotlivé složky a jejich komplexy putují porézní vrstvou, a v cílovém místě se navážou (nebo nenavážou) na specifickou protilátku. Používají se i **mimo mikrobiologii, např. v těhotenských testech**.

Klasický výsledek jsou **dva proužky v pozitivním** a **jeden proužek v negativním výsledku**.

2.3.9 Automatizace u serologických metod.

Velkou výhodou zejména moderních metod, jako jsou ELISy a Western bloty, je možnost automatizace. Dnes již existují automaty, které jsou schopny celou reakci provést samy – hlídají potřebné časy reakcí, přidávají činidla, promývají apod.

Téma 3 Přehled klinicky nejvýznamnějších bakterií

3.0 Úvod

Smyslem této a následující kapitoly je, abyste měli základní přehled systematického rozdělení bakterií (a virů), a abyste při probírání infekcí jednotlivých orgánových soustav měli alespoň základní představu o jejich zařazení a rozdělení. Základní znalosti budou vyžadovány i u zkoušky.

3.1 Nejdůležitější grampozitivní koky

3.1.1 Staphylococcus

Grampozitivní koky uspořádané zpravidla do malých či větších shluků

- ***Staphylococcus aureus*** („zlatý stafylokok“) – výrazný patogen, způsobuje hnisavé záněty kůže, ale i abscesy ve tkáních, případně i další infekce (například záněty plic)
- **koaguláza-negativní stafylokoky**, které nacházíme na kůži za fyziologických okolností, ale mohou způsobovat i močové infekce a infekce krevního řečiště.

3.1.2 Streptococcus

Grampozitivní koky uspořádané zpravidla do řetízků, ale někdy (pneumokok) i do dvojic

- **hemolytické** (betahemolytické) streptokoky
 - ***S. pyogenes*** neboli „streptokok skupiny A“ – způsobuje angínu, spálu, spalovou angínu, flegmóny ve tkáních, záněty fascií – fasciitidy („masožravý streptokok“)
 - ***S. agalactiae*** neboli „streptokok skupiny B“ – způsobuje močové infekce, infekce pohlavních orgánů a také novorozence (od matky)
 - takzvané „**non-A-non-B**“ streptokoky – způsobují např. nespecifické záněty hrtanu
- **viridující** (alfahemolytické) streptokoky
 - ***S. pneumoniae* = pneumokok** – způsobuje záněty středního ucha, dutin (sinusitidy), záněty plic, mozkových blan, ohrožení jsou lidé, kteří přišli o slezinu
 - **takzvané „ústní“ streptokoky** – dnes se ještě dělí do velkého počtu podskupin. Všechny se mohou vyskytovat v ústní dutině, jejich úloha je tam ale sporná (kdy se podílejí například na zubním kazu, a kdy jsou neutrální či prospěšné). Více o této skupině je uvedeno v tématech 12 a 13.
- málo významné **streptokoky bez hemolýzy** (gamahemolytické)

3.1.3 Enterococcus

Enterokoky byly dříve považovány za pouhou skupinu streptokoků. Tvoří krátké řetězky.

Nejdůležitější druhy jsou ***Enterococcus faecalis*** a ***E. faecium*** – oba dva jsou normálním nálezem ve střevě, ale způsobují močové infekce, někdy i sepsa a další nákazy

Zajímavost: existuje „moravský“ enterokok *E. moraviensis*, objevený brněnskými badateli.

3.2 Nejdůležitější grampozitivní tyčinky

3.2.1 Listeria

Nejdůležitější druh je ***Listeria monocytogenes***, způsobuje většinou bezpříznakové nákazy, ale nebezpečná je pro těhotné ženy. Zdrojem jsou sýry, sýrové saláty apod.

3.2.2 Corynebacterium

- ***Corynebacterium diphtheriae*** – původce záškrtu
- **kožní druhy** korynebakterií – prakticky nepatogenní, vzácně ale způsobují sepsu

3.2.3 Bacillus

Tato grampozitivní tyčinka je sporulující, tj. tvoří spory. Významný je

- **Bacillus anthracis** – původce antraxu (uhláku), možný nástroj bioterorismu
- **Bacillus cereus** – způsobuje enterotoxikózy hlavně z potravin z mouky
- **Ostatní bacily** se v klinickém materiálu zpravidla najdou jako kontaminace z okolí

3.2.4 Nocardia

Je to větvená tyčinka způsobující nokardiózu (podobné aktinomykóze, viz dále)

3.2.5 Grampozitivní tyčinky a oko

Listeria monocytogenes a **Corynebacterium diphtheriae** patří mezi ty vzácné bakterie, které jsou schopné proniknout skrz neporušenou rohovku, dochází k tomu ale spíše vzácně.

Výjimečně, u oslabených osob, mohou infekce rohovky způsobit i zástupci rodu **Bacillus**.

3.3 Nejdůležitější gramnegativní koky:

3.3.1 Neisseria

- **N. gonorrhoeae** – „gonokok“ – původce kapavky
- **N. meningitidis** – „meningokok“ – i zdraví ho mohou mít v krku, ale způsobuje zápalý mozgových blan s velice rychlým průběhem, často končící smrtí po několika hodinách. Gonokok i meningokok jsou uspořádány ve dvojicích.
- Takzvané „ústní“ **neisserie** – navzdory názvu jsou spíše než v ústní dutině normálně přítomny v krku (v hltanu). Patogenní působení (mimo tato místa) je vzácné.

3.3.2 Moraxella – podrody Branhamella a Moraxella

- **Moraxella (Branhamella) catarrhalis** – infekce HCD (ale i bezpříznakově v krku)
- **Moraxella (Moraxella) lacunata a podobné** – oční infekce

3.4 Nejdůležitější gramnegativní tyčinky

3.4.1 Enterobakterie

Jde o bakterie, které mají vztah ke střevu člověka a jiných obratlovců. Patří mezi nejvýznamnější klinicky významné bakterie, zároveň jsou ale významné i pro jiné oblasti mikrobiologie než je ta klinická. Lze je rozdělit například podle patogenity (viz kapitola 1.4.2):

- **Obligátne patogenní enterobakterie** (způsobující nemoci běžně)
 - **Salmonella – antropopatogenní (lidské) typy** způsobují tyfus a paratyfy (sepsy)
 - **Salmonella – zoopatogenní (zvířecí)** způsobují průjmové nemoci – salmonelózy
 - **Shigella** – způsobuje jinou průjmovou nemoc, tzv. bacilární úplavici
 - **Yersinia pestis** – původce moru
 - **Yersinia enterocolitica, Y. pseudotuberculosis** – původci průjmových nemocí
- **Oportunně patogenní enterobakterie** (za normálních okolností se vyskytují ve střevě zdravých osob, jako náhodný nález je nacházíme i v ústní dutině)
 - **Escherichia coli** – nejběžnější, přítomná ve střevě, ale patogen v močových cestách i jinde, některé serovary nebezpečné i ve střevě
 - **Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Proteus, Providencia, Morganella, Serratia** – podobná charakteristika jako E. coli, některé (Klebsiella, Serratia) často způsobují nozokomiální (nemocniční) infekce
- **Nepatogenní enterobakterie** existují, ale nemají význam pro člověka

3.4.2 Gramnegativní nefermentující tyčinky

- **Pseudomonas aeruginosa** – způsobuje popáleninové infekce, nozokomiální infekce, zápalý plic u dětí s cystickou fibrózou, ale nález může být i kontaminace z prostředí

- **Acinetobacter, Burkholderia, Stenotrophomonas** – podobná charakteristika jako u *Pseudomonas aeruginosa*

Poznámka: *Acinetobacter* je spíš kokotyčinka až kok, ne tyčinka, ale z praktických důvodů bývá řazen sem.

3.4.3 Ostatní gramnegativní tyčinky:

- **Haemophilus** (*H. influenzae*, *H. parainfluenzae*) – přítomen v dýchacích cestách i u zdravých, může ale působit infekce dýchacích cest. *Haemophilus influenzae* serovar b způsobuje vzácně zánět příklopky hrtanové a může způsobovat záněty mozkových blan, hlavně u batolat; v poslední době toho všeho ubylo, díky očkování. *Haemophilus parainfluenzae* je velmi běžná bakterie v hrtanu i v ústní dutině. Považuje se za součást běžné mikroflóry, i když při přemnožení se snad i podílí na infekcích
- **Pasteurella** – nachází se v psích tlamách a infikuje rány po pokousání psem
- **Campylobacter** – původce průjmových onemocnění (podobné jako salmonelóza, ale zdrojem je spíš kuřecí maso než vajíčka)
- **Helicobacter** – podílí se na vzniku žaludečních vředů
- **Vibrio** – nejvýznamnější je *Vibrio cholerae*, původce těžkého průjmu – cholery, dnes spíše mimo Evropu; další druhy vibrií a příbuzných aeromonád způsobují také průjmy, nebo také infekce ran např. při kuchání ryb
- **Legionella** – původce legionářské nemoci (dýchací infekce seniorů, z vody a klimatizace)
- **Bordetella** – význam má především *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*, původci dávivého kašle
- **Francisella** – především *Francisella tularensis*, původce tularémie neboli zaječím moru

3.5 Nejdůležitější anaeroby:

3.5.1 Clostridium

Jsou to grampozitivní sporující tyčinky. Ve stádiu spory vydrží i v prostředí s kyslíkem.

- **C. tetani** – původce tetanu (produkuje tetanické toxiny)
- **C. botulinum** – původce botulismu (produkuje botulotoxin – „klobásový jed“)
- **C. difficile** – jeho toxin způsobuje enterotoxikózu, především po léčbě širokospektrými (hlavně linkosamidovými) antibiotiky
- **C. perfringens** a jiná tzv. „klostridia plynatých snětí“ – působí plynatou sněť a enterotoxikózy.

3.5.2 Actinomyces

Jsou to grampozitivní dlouhé tyčinky až větvená vlákna – způsobuje aktinomykózu (pozor, neplést s houbovou infekcí – mykózou). Aktinomycety se běžně vyskytují v ústní dutině a podílejí se na patogenních procesech nejen zde (viz kapitoly 13 a 14), ale i v měkkých tkáních v okolí (tkáň krku) i jinde (například v oblasti hrudníku). Tradičně se aktinomycety považují za anaeroby, ale ve skutečnosti jsou mikroaerofilní. Ovšem nízká množství kyslíku v nedokonalé anaerobním prostředí běžných anaerobních boxů mikrobiologických laboratoří jim vyhovují.

3.5.3 Ostatní anaeroby

Většinou působí ve směsi. Jejich názvy nejsou zvlášť důležité. Mohou to být grampozitivní tyčinky (*Propionibacterium*) či koky (*Peptococcus*), nebo také tyčinky (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*) či koky (*Veillonella*) gramnegativní.

Anaerobní bakterie se běžně vyskytují v ústní dutině; nejdůležitější jsou zde rody *Prevotella* a *Porphyromonas*. Za zvlášť významnou se považují bakterie *Porphyromonas gingivalis* a *Tannerella forsythia*, které jsou součástí takzvaného červeného komplexu (red komplex); tento komplex zahrnuje bakterie, které jsou pravděpodobně velmi rizikové z hlediska onemocnění závažného aparátu zubů.

3.6 Nejdůležitější spirochety:

3.6.1 Treponema

Nejvýznamnější je druh *T. pallidum* – původce syfilis (pohlavně přenosná celková nemoc). Z hlediska orální mikrobiologie je velmi významným druhem *Treponema denticola*, která je třetím druhem z trojice, podílející se na „červeném komplexu“.

3.6.2 Borrelia

Patří sem druh *B. burgdorferi* sensu lato, který se rozpadá na několik druhů „v užším slova smyslu“, u nás se vyskytuje hlavně *B. afzelii* a *B. garinii*. Všechny tyto druhy jsou původci lymeské boreliózy (klíšřaty přenášená infekce, projevující se v počátečních stádiích červenými skvrnami a postihující hlavně nervovou soustavu, případně klouby)

3.6.3 Leptospira

Je to původce leptospirózy (infekce ran či dýchacích cest, zpravidla od potkanů a jiných hlodavců, člověk se nakazí přímým kontaktem nebo konzumací poříšněných potravin)

3.7 Nejdůležitější z ostatních bakterií:

3.7.1 Mykobakteria

Tyto bakterie mají atypickou buněčnou stěnu, obsahující vosky; špatně na ně proto působí všechno, co je rozpuštěno ve vodě (kyseliny, louhy, barviva, běžná antibiotika, mnohé desinfekční prostředky). Takovým bakteriím říkáme acidorezistentní. Částečně acidorezistentní jsou i aktinomycety a nokardie.

- ***M. tuberculosis*** – původce tuberkulózy (TBC mohou vzácně způsobovat i jiné druhy)
- ***M. leprae*** – původce lepry (nemoc, která stále ohrožuje obyvatelstvo tropů)
- **Atypická mykobakteria** mohou způsobovat různé typy infekcí, především infekce ran například u akvaristů, plavců a podobně
- **Nepatogenní mykobakteria** se nacházejí na různých místech těla (například *M. smegmatis* v předkožkovém vaku muže). Některá mykobakteria se podílí i na ústním biofilmu.

3.7.2 Mykoplasmata (a ureaplasmata)

Tyto bakterie vůbec nemají buněčnou stěnu. Jejich diagnostika je obtížná, také léčbu je nutno přizpůsobit nepřítomnosti buněčné stěny

- ***M. pneumoniae*** způsobuje atypické záněty plic
- ***M. hominis* a *U. urealyticum*** jsou přítomny na pohlavních orgánech, jejich vztah k onemocnění je však nejistý, protože jsou často přítomny i u zdravých

3.7.3 Rickettsie a chlamydie

Potřebují k životu cizí buňku. To znamená, že i diagnostika je podobná diagnostice virů.

- ***Chlamydophila pneumoniae*** – další původce atypického zápalu plic
- ***Chlamydophila psittaci*** – způsobuje ptačí nebo papouščí nemoc
- ***Chlamydia trachomatis*** – patogenita se liší podle serovarů. Některé způsobují tropickou slepotu (trachom), jiné tropickou pohlavní nemoc (lymphogranuloma venereum) a další pohlavní infekce ve vyspělých zemích
- ***Rickettsia prowazeki*** je původcem skvrnitého tyfu
- ***Rochalimea*, *Ehrlichia*** jsou příbuzné rickettsiím. Způsobují rozličné nemoci, často přenášené členovci. Totéž platí pro rody ***Bartonella* a *Coxiella***, o kterých dnes již víme, že rickettsiím příbuzné nejsou (ale některými vlastnostmi se jim podobají)

Téma 4 Přehled klinicky nejvýznamnějších virů, hub a parazitů

4.1 Nejdůležitější DNA viry

4.1.1 Poxviry

- **Virus pravých neštovic** byl eradikován (vykořeněn) mimo jiné díky českým badatelům
- **Virus vakcinie** se používal k očkování proti pravým neštovicím
- **Virus molluscum contagiosum** způsobuje průsvitné nebolestivé uzlíky (i v oblasti oka).

4.1.2 Herpesviry

- **Viry prostého a pásového oparu**
 - **Virus prostého oparu typ 1 (HSV 1)** způsobuje především herpes labialis (opar rtu)
 - **Virus prostého oparu typ 2 (HSV 2)** způsobuje především herpes genitalis
 - **Virus pásového oparu a planých neštovic (VZV)** způsobuje neštovice u dětí a pásové opary u dospělých
- **Ostatní herpesviry**
 - **EB virus** způsobuje infekční mononukleózu a má vztah k některým nádorům
 - **Cytomegalovirus** je většinou bezpříznakový, ale mohou být neurčité příznaky
 - **HHV6 a HHV7** – šestý i sedmý lidský herpesvirus způsobují tzv. šestou nemoc – roseola infantum neboli exanthema subitum (nemoc s vyrážkou)
 - **HHV 8** se spolu s virem HIV podílí na vzniku Kaposiho sarkomu

4.1.3 Adenoviry

Různé adenoviry způsobují různé infekce (dýchacích cest, močových cest, střevní nákazy). Velmi časté jsou adenovirové záněty spojivek, kombinované s „rýmou“.

4.1.4 Parvoviry

Významný je parvovirus B19, původce páté dětské nemoci – megalerythema infectiosum. Dítě vypadá „jako by ho někdo zřackoval“ (oficiálně „syndrom zpolíčkování dítěte“).

4.1.5 Papovaviry

- **Papilomaviry** způsobují bradavice na kůži a tzv. condylomata accuminata na pohlavních orgánech. Mají také vztah k rakovině děložního čípku. nyní se proti nim očkuje. Papilomavirové bradavice se mohou vyskytovat i v ústní dutině.
- **Polyomaviry** způsobují některá vzácná onemocnění

4.1.6 Virus hepatitidy B

Stejně jako viry ostatních hepatitid je popsán v kapitole 9.2

4.2 Nejdůležitější RNA viry

4.2.1 Pikornaviry

Patří sem **enteroviry**, které na rozdíl od enterobakterií nemají tak těsný vztah ke střevu. Sice se přenášejí trávicími cestami, způsobovat však mohou infekce různého typu. Dále se dělí na:

- **Polioviry** – viry dětské obrny, závažné neuroinfekce. Díky Salkově a Sabinově vakcíně se dnes v Evropě prakticky nevyskytují.
- **Coxsackieviry, echoviry a ostatní enteroviry** – způsobují různé potíže, např. dýchací, nervové, někdy i horečky, krvácivé projevy apod.
- **Virus hepatitidy A** už dnes přímo mezi enteroviry nepatří, ale je s nimi příbuzný.

Rhinoviry jsou viry běžné rýmy. Ne každá rýma je ale způsobena právě těmito viry.

4.2.2 Rotaviry

Jsou to nejdůležitější původci závažných průjmů u kojenců a malých dětí, ale i u seniorů.

4.2.3 Kaliciviry

Nejvýznamnější jsou **noroviry a sapoviry**, v obou případech původci průjmů. Předpokládá se, že noroviry jsou zodpovědné za mnohé významné epidemie, zejména na velkých výletních lodích. Příbuzný kalicivirům (ale dnes už za kalicivirus přímo nepovažovaný) je **virus hepatitidy E**.

4.2.4 Togaviry

Pro člověka je významný především **virus zarděnek** (dětská nemoc s vyrážkou, očkuje se). Kromě něj do této skupiny patří některé arboviry (= viry přenášené členovci). V posledních letech byly i do Evropy zavlečeny (z východní Afriky) viry způsobující horečky a neurologické příznaky s názvy **chikungunya** a **o'nyongnyong**.

4.2.5 Flaviviry

- **Virus středoevropské klíšové encefalitidy** – významná, klíšaty přenášená nemoc, zánět mozku a mozkových blan.
- **Tropické flaviviry** – Patří sem viry tropických nemocí – žluté zimnice a horečky dengue
- **Virus hepatitidy C**

4.2.6 Koronaviry

- **Běžné respirační koronaviry** se podílejí asi na čtvrtině případů infekční rýmy.
- **Virus SARS**, objevený nedávno, způsobil epidemii těžké a smrtící respirační infekce v Asii

4.2.7 Paramyxoviry

- **Viry parachřipky** způsobují takzvanou parachřipku, nemoc podobnou chřipce, ale lehčí a na rozdíl od ní postihující i horní dýchací cesty
- **Virus spalniček** způsobuje spalničky, latinsky morbilli. Spalničky jsou ze všech dětských nemocí s vyrážkou nejzávažnější, děti mají vysokou teplotu a jsou plačtivé. Očkuje se.
- **Virus příušnic** způsobuje dětské příušnice, nebezpečné u dospělých mužů (varlata)
- **Respirační syncytiální virus (RS virus)** napadá dolní cesty dýchací kojenců.

4.2.8 Virus vztekliny

Způsobuje závažné onemocnění. Když se rozvine, již není léčitelné, a pacient v bolestech umírá.

4.2.9 Filoviry a arenaviry

Patří sem viry tzv. hemoragických horeček – vzácné, ale závažné. Mezi filoviry patří virus marburgské horečky a virus horečky Ebola. Mezi arenaviry zase původce horečky lassa.

4.2.10 Orthomyxoviry (viry pravé chřipky)

Patří sem tři chřipkové viry: virus chřipky A, virus chřipky B a virus chřipky C. Chřipka je nemoc celého těla, ale především dolních cest dýchacích. Více v kapitole o dýchacích infekcích.

4.2.11 Retroviry

Typická pro tuto čeleď je přítomnost reverzní transkriptázy, tedy enzymu, který přepisuje RNA do DNA. Patří sem zejména virus HIV, o kterém je řeč i ve třinácté a čtrnácté kapitole.

4.2.12 Viroidy

Jde o nekompletní virové částice. K životu potřebují část jiného viru. Typickým viroidem je původce hepatitidy D: k životu potřebuje obal viru hepatitidy B. Více v kapitole o hepatitidách.

4.3 Původci mykóz, vyšetřovací metody v mykologii

4.3.1 Houby obecně

Houby jsou **eukaryotní organismy**, tvoří samostatnou říši vedle říše živočišné a rostlinné. Z organel hub má význam **buněčná stěna**, tvořená chitinem a úplně jiná než buněčná stěna bakterií. Pro praxi hovoříme většinou o **kvasinkách** (spíše jednobuněčné, biochemicky hodně aktivní) a **vláknitých houbách („plísňích“)**. Není to ovšem přesné.

4.3.1.1 Přenos hub

Přenos hub může být různý, většinou se ovšem snadno přenáší vzduchem ve formě spor a konidií.

4.3.1.2 Význam hub

Houby způsobují:

- **mykózy** (houbové záněty, ať už jsou způsobeny kvasinkami či vláknitými houbami)
- **mykotoxikózy** (houbové otravy, v širším slova smyslu sem patří i otravy velkými houbami, např. muchomůrkami)
- **mykoalergózy** (alergie na houby a jejich složky)
- **mycetismy** (houba je přítomna v organismu, ale škodí jen mechanicky utlačováním okolních tkání).

Mykózy dělíme většinou takto:

Povrchové mykózy (kožní a slizniční – zejména rody *Trichophyton*, *Epidermophyton*) a **podkožní mykózy** (*Sporothrix*)

Orgánové mykózy (*Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*),

Kandidózy mají zvláštní postavení

4.3.1.3 Diagnostika mykotických onemocnění

- **Mikroskopie.** Houby jsou asi desetkrát větší než bakterie, proto jsou dobře viditelné i v **nativním preparátu**. Houby (zejména kvasinky) se však také dají zpravidla dobře barvit i **podle Grama**. Barví se fialově, přestože jejich buněčná stěna nemá nic společného s buněčnou stěnou grampozitivních bakterií.
- **Kultivace.** Základem je Sabouraudův agar. Většinou se nalévá jako šikmý agar do zkumavek, takže i při dlouhodobé kultivaci (vláknitých hub) půda nevyschne.
- **Biochemická identifikace** využívá podobných typů testů jako při diagnostice bakterií
- **Nepřímý průkaz** má význam u systémových mykóz, např. aspergilózy.
- **Testování in vitro citlivosti na antimykotika** připadá v úvahu u kvasinek, nikoli u vláknitých hub. Difusní diskový test se dělá, ale není spolehlivý. Spolehlivější je např. tzv. FUNGItest.

4.3.1.4 Léčba mykotických onemocnění

Používají se antimykotika několika skupin:

- **Amfotericin B** je vysoce účinné, ale zároveň také velmi jedovaté rezervní antimykotikum k léčbě velmi závažných infekcí. Menší toxicitu má zvláštní léková forma - amfotericin B v intralipidu.
- **Imidazolová antimykotika**, jako je ketokonazol a mikonazol, jsou dobře snášena, ale méně účinná. Nehodí se k léčbě systémových a vůbec závažnějších mykóz.
- **Triazolová antimykotika**, jako je itraconazol (SPORANOX), flukonazol (DIFLUKAN) a novější vorikonazol (V-FEND) se hodí i pro léčbu závažných mykóz. U flukonazolu je problémem primární rezistence některých druhů kandid.
- **5-fluorocytosin** (flucytozin) je moderní rezervní antibiotikum, velmi drahé, hodí se pro léčbu v kombinacích.
- **Echinokandinová antimykotika**, jako je caspofungin (CANCIDAS) a anidulafungin (ECALTA) jsou moderní antibiotika k léčbě invazivních infekcí. Zatím na ně nebývají rezistence.

4.3.2 Původci kožních mykóz

jsou houbové organismy, způsobující onemocnění kůže, popřípadě sliznic. Zvlášť je probrán rod *Candida* – kandidy mohou vyvolat jak povrchové, tak hluboké mykózy.

4.3.2.1 Význam kožních mykóz

Tyto houby mohou způsobovat onemocnění různých částí kůže. Používá se také pojmů **dermatomykóza (dermatofytóza)** pro onemocnění kůže, **trichomykóza/fytóza** pro onemocnění chlupů a **onychomykóza** pro onemocnění nehtů.

Nejvýznamnější je tzv. skupina **dermatofyt**, tvořená třemi rody: *Trichophyton*, *Epidermophyton* a *Microsporum*.

4.3.2.2 Diagnostika kožních mykóz

Mikroskopie (obvykle v nativním preparátu). Dále se užívá **kultivace** na Sabouraudově agaru.

4.3.2.3 Léčba kožních mykóz

K léčbě kožních mykóz se používají různá antimykotika ve formě mastí, emulzí a šamponů.

4.3.3 Rod *Candida*

Kandidy jsou velmi běžnými kvasinkami. U člověka jsou běžné jednak jako původce onemocnění, ale ještě častěji jako bezpříznaková kolonizace (zejména střevo, ale i jinde).

Člověk a *Candida* si na sebe v průběhu evoluce velice dobře "zvykli" – onemocnění vzniká při porušení rovnováhy.

4.3.3.1 Význam rodu *Candida*

Nejvýznamnější je druh *Candida albicans*, důležité jsou ale i některé další – *C. tropicalis*, *C. crusei*, *C. parapsilosis*. U závažných onemocnění je druhové určení užitečné – některé druhy mají přirozenou rezistenci vůči některým antimykotikům.

Všechny druhy bývají **nalézány** ve střevě, v ústech a krku, v močových cestách, na kůži, avšak u oslabených osob také ve tkáních (plíce, trávicí orgány aj.). S výjimkou nálezů ve tkáních nelze jednoznačně říci, kdy je *Candida* spíše patogenem a kdy kolonizací. Pomoci může mikroskopická charakteristika. Eliptické buňky jsou typické pro saprofytickou, neinvazivní formu, řetízky až vlákna pro invazivní.

Velká většina kandidóz je **endogenního původu**, tj. že pacient je sám sobě zdrojem onemocnění (například žena si zanesou kvasinky z řiti do pochvy, nebo vůbec nejde o přenos, jen o porušenou rovnováhu). V poslední době ale přibývá také nemocničních kandidóz, přenášených mezi pacienty navzájem.

Kandidy jsou dosti **odolné**, zejména proti zásaditému pH. Milují cukry, a proto s oblibou osidlují pochvy diabetiček a mlsných žen, mimo to jsou častější u těhotných v závislosti na hormonálních změnách.

4.3.3.2 Diagnostika u rodu *Candida*

Mikroskopicky v nativním nebo barveném (Gram) preparátu vidíme eliptické buňky, někdy pučící, nebo jejich řetízky až vlákna. **Kultivace** na krevním nebo Sabouraudově agaru (SA). Od kolonií *Staphylococcus epidermidis* nebo *Corynebacterium* sp. se odliši někdy kvasnicovou vůní, ale někdy teprve nátěrem. K rozlišení všech kandid lze použít **biochemické vlastnosti. Průkaz antigenů a protilátek** se provádí u těžkých forem a sepsí (precipitace, aglutinace)

4.3.3.3 Léčba u rodu *Candida*

U slizničních forem se užívá clotrimazol (Canesten) v různých lékových formách, u systémových forem pak klasická antimykotika, jako je nystatin, amfotericin B a imidazolová antimykotika (mikonazol, ketokonazol, novější flukonazol, itrakonazol a vorikonazol).

4.3.4 Původci systémových mykóz

jsou houby, které zpravidla nepostihují člověka často a u zdravého člověka k infekci nedochází, nebo proběhne bez příznaků či mírně. Nákaza je častá u pacientů s postiženou imunitou včetně postižených AIDS. Mnozí původci se vyskytují běžně v prostředí (známe je jako "plísňe")

napadající potraviny), které ve výjimečných případech způsobují závažná onemocnění (Mucorales, *Aspergillus*)

4.3.4.1 Význam a rozdělení původců systémových mykóz

Aspergillus (plíseň štětičková) je velmi běžný v prostředí. Může jednak produkovat jedy (aflatoxiny), jednak působí záněty plic, astma, nejrůznější dýchací i jiné komplikace.

Mucorales (zástupce *Mucor* = plíseň hlavičková) jsou pravé plísně (to se pozná podle toho, že jejich "podhoubí" není rozdělené přepážkami). Velmi rychle se šíří a mají afinitu k cévám. I v dnešní době končí naprostá většina onemocnění smrtí a diagnostika se provádí teprve na pitevně.

Pneumocystis jiroveci. Dříve byl považován za parazita-prvoka. Přenáší se zřejmě i vzduchem. Častý je nález u imunokompromitovaných osob (včetně AIDS).

4.3.4.2 Přenos

zpravidla vzduchem, zdrojem může být prach, zvířecí trus apod.; u *Aspergillus* a *Mucorales* jsou spory všudypřítomné.

4.3.4.3 Diagnostika

Vedle přímého mikroskopického a kulturačního **průkazu** se zpravidla provádí nepřímý (serologický) průkaz.

4.3.4.4 Léčba

Antimykotika k celkové léčbě (viz *Candida*)

4.4 Paraziti a jejich vyšetřování

Paraziti jsou mikrobiální patogeny živočišného původu. Někteří paraziti nesplňují definici mikroba (jsou pozorovatelní pouhým okem), ale z praktických důvodů se zařazují do mikrobiologie.

Paraziti mohou způsobovat nemoci prakticky všech orgánových soustav. To je dáno mj. jejich různorodostí. Parazity je možno členit podle různých kritérií. Souhrnem nejběžnějších členění je následující schéma:

- **Paraziti vnitřní** (působí jako patogeny uvnitř těla)
 - **Prvoci** (bičíkovci, výtrusovci, améby...) – např. toxoplasma
 - **Červi ploší (ploštěnci)**
 - Tasemnice (Cestoda) – např. tasemnice dlouhočlenná
 - Motolice (Trematoda) – např. motolice jaterní
 - **Červi oblí (oblovci)** - Nematoda čili hlístice – např. škrkavka
- **Paraziti vnější** (hmyz a roztoči) – např. veš muška

Vnitřní parazity lze členit nejen systematicky, ale také podle orgánů, které napadají:

- **střevní paraziti** – nejčastější (giardie/lamblie, entaméby, škrkavky, roupi, tasemnice apod.)
- **urogenitální paraziti** – například trichomonády
- **krevní paraziti** – například malarická plasmodia
- **tkáňové paraziti** – například toxoplasma

4.4.1 Diagnostika parazitárních onemocnění

Nejčastěji mikroskopická (průkaz prvoků, vajíček červů), méně často kulturační (např. *Trichomonas*) či nepřímá (serologická – hlavně u tkáňových parazitóz, kupříkladu u toxoplasmózy). Bývají též zvýšené protilátky třídy IgE. Mikroskopie často zahrnuje nebarvené preparáty (objekty jsou dost velké), speciální barvení se používají u menších, převážně jednobuněčných parazitů (střevní améby, trichomonády).

4.4.2 Léčba parazitóz

Bohužel, ne u všech parazitóz známe adekvátní léčbu. Až na výjimky se používají speciální léky, které neúčinkují na jiné mikroby (bakterie, plísně).

4.4.3 Prvoci

Někteří způsobují velmi závažné choroby

Giardia lamblia. Je to bičíkatý prvok. Šíří se fekálně orálně. Jde o průjmové onemocnění, celosvětově velmi časté. Ve vyspělých zemích je častost menší, ale o to horší bývají příznaky.

Entamoeba histolytica. Jedná se o amébu – měňavku. Za určitých okolností napadá střevní sliznici a tudíž se dostává do nejrůznějších orgánů těla. Vedle tohoto druhu existují i druhy nepatogenní, které je třeba odlišit.

Trichomonas vaginalis. Je to bičíkovec stejně jako *Giardia*. Na rozdíl od giardií ale netvoří cysty. Postihuje pochvu, vulvu, děložní hrdlo, někdy močovou trubici. Typický je žlutozelený, sladce páchnoucí výtok a mikroskopický obraz. U mužů se často klinicky neprojevuje. Přenos zpravidla pohlavní, vzácně poševními sekrety či močí.

Toxoplasma gondii. Tento parazit má dvě možnosti: buďto prodělá celý vývoj v kočce, nebo pro jeho část použije mezihostitele, přičemž nepohrdne člověkem. Bez kočky se ovšem neobejde. V přenosu hrávají roli i potraviny (zejména špatně tepelně opracované maso). Naprostá většina případů je bezpříznakových, ale mohou nastat komplikace oční, CNS aj. Nebezpečné je onemocnění těhotných.

Malarická plasmodia. Jsou čtyři: jedno vyvolává tzv. tropickou malárii, dvě vyvolávají malárii třídenní a čtvrté čtyřdenní. Tropická je nejhorší. Přenáší se komárem *Anopheles*. Projevuje se bolestmi hlavy a svalů, nevolností, později mrazením, třesavkou, horečkou a pocením.

Léčba. Na mnohé prvoky (včetně trichomonád) platí metronidazol (AVRAZOR) a podobné preparáty. U malárie se také doporučuje prevence. Ta spočívá jednak v ochraně před komáry (dlouhé nohavice aj.), jednak v užívání antimalarik preventivně.

4.4.4 Motolice

jsou ploší „červí“ měřící několik mm až cm. Mají přísavky, někdy i trny.

Schistosomy. Způsobují schistosomózy – dříve bilharziózy v subtropech a tropech..

Jaterní, plicní a střevní motolice. Člověk se nakazí od mezihostitele, což může být vodní rostlina, ryba, krab apod. Příznaky velmi různé (horečky, žloutenky, postižení CNS a různé jiné). –

Diagnostika motolic: mikroskopická. **Léčba:** praziquantel.

4.4.5 Tasemnice

Tasemnice dlouhočlenná – *Taenia solium* (2–3 m) a **tasemnice bezbranná** – *Taenia saginata* (3–10 m) jsou klasické tasemnice: dlouhočlenná prasečí, *saginata* hovězí. U svých hlavních hostitelů dělají ve tkáních boubele (cysticerky). Prasečí je může u dělat i u člověka, hovězí nikoli. Obě jinak žijí s mírnými příznaky ve střevě. Člověk se nakazí obvykle sněžením boubele.

Další tasemnice: Škulovec široký – rybí tasemnice, tasemnice dětská – *Hymenolepis nana*, měchožil zhoubný – *Echinococcus granulosus*.

Diagnostika: mikroskopie, u měchožila serologie; **léčba:** speciální preparáty.

4.4.6 Hlístice

Na rozdíl od „červů“ plochých (se kterými nejsou vůbec příbuzní) mají kruhový průřez. Nejsou článkované, mají oddělená pohlaví a mají ústa a střevo (na rozdíl od plochých červů, kteří přijímají potravu celým tělem).

Roup dětský – *Enterobius vermicularis*. Jeden z nejčastějších parazitů i u nás. Samička klade vajíčka do řas v okolí řiti dítěte. Zde vajíčka rychle dozrávají. Jsou-li pozřena (dítě se škrábe a pak si cucá prsty – autoinfekce), dospívají pak ve střevě. Projevuje se hlavně neklidem a nespavostí. Komplikací mohou být dívčí poševní výtoky. Diagnostika Grahamovou metodou, kdy se lepicí páska nalepí na řiť (respektive na perianální řasy v jejím okolí) a pak na podložní sklíčko. V laboratoři se pak prohlíží sklíčko s lepicí páskou, aniž by se jakkoli dále zpracovávalo. Při profylaxi nutná dekontaminace osobních věcí.

Škrkavka dětská – *Ascaris lumbricoides*. Dlouhá 10 – 30 cm. Má složitý životní cyklus: člověk pozře vajíčko, larva se skrz stěnu střeva dostane do cév, jimi do plic, při kašlání pak do hltanu a odtud

zpátky do střeva. Potíže mohou vznikat při migraci larev (kašel, bolesti hrudníku, krev ve sputu; event. postižení mozku, ledvin) či při pobytu ve střevě – možnost ucpání žlučvodů a vývodů pankreatu. Ve stolici se prokazují vajíčka.

Hádátka střevní, měchovci, škravka psí a kočičí jsou další zástupci této skupiny. Někteří se vyskytují nejen ve střevě, ale i ve tkáních.

Léčba nálezů vyvolaných oblovcí. Na roupou se používá Pyrvinium, na ostatní mebendazol a jiné.

4.4.7 Ektoparaziti – členovci

Členovci vlastně nepatří do mikrobiologie, protože jsou pozorovatelní pouhým okem nebo lupou.

Z praktických důvodů jsou ale do učebnic zařazováni.

Členovci mají význam 1) jako obtěžující 2) jako vyvolávající druhotně choroby (alergie, ekzémy, bakteriální infekce poškozené kůže, zhnisání rány pro přisátí), 3) jako přenašeči infekcí. Někteří členovci se projevují jako pasivní přenašeči infekce, aniž by byli parazity v pravém slova smyslu.

Klíšťata – čeled' *Ixodidae*. Měří 5 až 10 mm. Larvy mají tři páry nohou, dospělci čtyři. I larvy a nymfy sají s oblibou krev. Vyskytují se zpravidla ve smíšených a listnatých lesích s křovinami. Zpravidla se nevyskytují na horách. Rezervoárovými zvířaty jsou drobní hlodavci. **Odstranění klíštěte** se dnes doporučuje provádět pinzetou se skosenými konci nebo opatrně nehty v gumových rukavicích. Vhodné je desinfikovat ránu jódovým preparátem. Následkem štípnutí může být drobné zarudnutí, které je třeba odlišit od (plošně mnohem většího) zarudnutí u lymeské boreliózy. Ta je klíšťaty přenášena stejně jako klíšťová encefalitida a klíšťová ehrlichioza. Vedle klíšťat existují také **klíšťáci**.

Zákožka svrabová – *Sarcoptes scabiei*. Veliká 0,2 až 0,5 mm. Samičky si vyvrtávají chodbičky v kůži. Přenáší se mezilidským kontaktem (často v kolektivech – domovy důchodců, útulky pro bezdomovce apod.). Ekzém je prakticky nedílnou součástí choroby. Zákožky se s oblibou vyskytují na svaštělé kůži. **Léčba:** potírání kůže Jacutinem.

Vši – *Anoplura*. Veš dětská (hlavová) je běžná u dětí, které se snadno nakazí v kolektivu (školka, tábor). Veš šatní nežije na těle, ale v šatstvu. U nás se často vyskytuje v útlucích bezdomovců apod. Veš muňka (lidově filčka) se vyskytuje výhradně v pubickém ochlupení a její nákaza je vlastně pohlavně přenosnou chorobou. Vši vyvolávají pupence, otoky, muňka namodralé skvrnky. Někteří vši přenášejí choroby. K léčbě a prevenci se t. č. používá Diffusil H Forte, Parasidose a Jacutin gel, ale může se vyvinout rezistence.

Štěnice – *Cimex lectularius*. Je to vlastně ploštice. Ráda se ukrývá ve škvírách, za tapetami a obrazy podobně. Živí se výhradně krví.

Dvoukřídlí – *Diptera*. Komáři, komárci, muchničky apod. působí jako přenašeči různých chorob, obvykle pasivní. Při prevenci je důležité zničení přirozených líhnišť (zejména u komárů). Někteří mouchy kladou larvy do ran či tělních dutin (do ucha, do oka apod.). Tomu se říká myiáza

Blechy – *Siphonaptera*. Blechy se významně uplatnily při morových epidemiích. Kromě typického lidského druhu *Pulex irritans* napadají někdy člověka i zvířecí druhy.

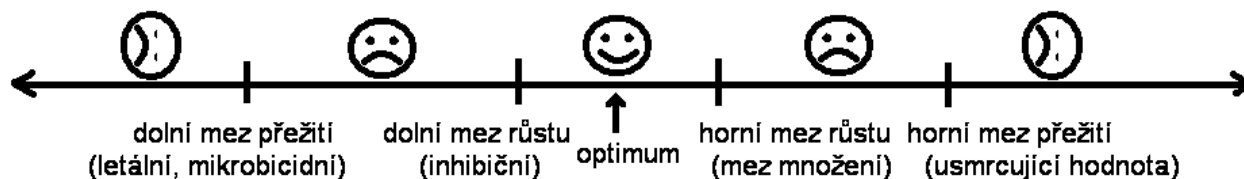
4.4.8 Kroužkovci

Ke kroužkovcům patří např. žížaly. Parazitem je pijavka lékařská (*Hirudo medicinalis*), která se dříve používala k "pouštění žilou".

Téma 5 Desinfekce a sterilizace

5.1 Mikroby a prostředí, chování mikrobů při změnách jednotlivých faktorů v prostředí

5.1.1 Chování mikrobů při změnách fyzikálních a chemických faktorů



5.1.1.1 Mikroby a vnější prostředí

Baktérie (a podobně i ostatní mikroby) jsou velmi citlivé na změny vnějšího prostředí. Na ose, znázorňující kvantitu nějakého faktoru (třeba pH či teplotu), můžeme určitou hodnotu definovat jako **optimální**. To je hodnota, při níž se baktériím daří nejlépe. Když se hodnota zvyšuje nebo snižuje, narazíme nejprve na **inhibiční** mez, kdy je inhibován (zastaven) růst baktérií, a nakonec na **baktericidní** mez, kdy jsou mikroby nevratně ničeny (usmrceny). Faktorem, o němž je řeč, může být kromě teploty také třeba tlak, vlhkost, koncentrace nějaké chemické látky apod. Samozřejmě, ne vždy lze definovat všechny meze – například dolní baktericidní mez u teploty prakticky nelze stanovit, velmi nízké teploty mikroby spíše konzervují.

Pokud hovoříme o nějaké chemické látce, která baktériím škodí (desinfekční činidlo, antibiotikum – viz dále), používají se pro výše uvedené meze pojmy **minimální inhibiční koncentrace** a **minimální mikrobicidní (u bakterií baktericidní) koncentrace**. Zde již vysloveně mají význam pouze horní meze.

5.1.1.2 Kombinace faktorů

Faktory se navzájem **kombinují**. Působíme-li dvěma faktory zároveň, zpravidla stačí k usmrcení bakterií nižší hodnota každého z nich než kdybychom působili samostatně.

Rozhodují i takové věci, jako je vlhkost vzduchu, přítomnost či absence nucené cirkulace vzduchu (v termostatu) a podobně.

Přinejmenším se vždycky všechny faktory kombinují **s časem**. Proto vyšší teploty ničí bakterie za kratší dobu, než teploty nižší.

5.1.1.3 Lékařsky významné mikroby a vnější prostředí

Lékařsky významné bakterie jsou obvykle nastaveny na podmínky, jaké mohou naléznout v lidském (nebo zvířecím) organismu: 37 °C (ptačí patogeny přes 40 °C, což je normální tělesná teplota většiny ptáků), 0,9 % NaCl apod. Bakterie s optimem kolem 37 °C se nazývají **mezofilní**, ty, které mají optimum vyšší, **termofilní**, pokud nižší, jsou **psychofilní**.

5.1.2 Praktický význam mezí růstu a přežití

5.1.2.1 Mikrobicidní (baktericidní) meze

Jsou významné pro boj s mikroby (sterilizace, desinfekce) – hodnoty působících faktorů musí být nastaveny tak, aby byly bakterie (nebo jiné mikroby) usmrceny.

5.1.2.2 Inhibiční meze a optimální hodnoty

Jejich znalost je **důležitá pro pěstování (kultivaci) bakterií**. Je důležité vědět, že různé bakterie se liší (často velmi podstatně) ve svých nárocích na teplotu, vlhkost, koncentrace solí apod.

Inhibiční mez u antimikrobiálních látek (minimální inhibiční koncentrace) je **důležitá pro antimikrobiální léčbu**.

5.2 Zásady praktického použití dekontaminačních metod

5.2.1 Dekontaminační metody a jejich použití

Dekontaminační metody jsou fyzikální a chemické postupy určené především k likvidaci zdraví ohrožujících organismů – mikrobů (sterilizace, vyšší stupeň desinfekce, desinfekce), hmyzu (desinsekce) a hlodavců (deratizace). Poslední dvě jsou někdy vyčleňovány jako tzv. **asanační metody**. Některými metodami se ovšem zlikvidují všechny (mikro)organismy. Při použití všech těchto metod je důležité dodržení několika zásad. Je nutno především:

1. Vybrat **vhodnou sterilizační/desinfekční metodu nebo prostředek**. Pojem "vhodný" znamená:
 - 1.1 musí bezpečně ničit ty organismy, které připadají v daném prostředí v úvahu, respektive všechny organismy (v případě sterilizace)
 - 1.2 nesmí ničit desinfikovaný či sterilizovaný materiál (povrch, pokožku...)
 - 1.3 musí být prakticky použitelný (z ekonomických hledisek, provozních apod.)
2. Použít **dostatečnou intenzitu faktoru** – dostatečnou teplotu, intenzitu záření, dostatečnou koncentraci přípravku apod.
3. Příslušný **faktor musí působit dostatečně dlouho** (často se nedodržuje – sestra potře kůži desinfekcí a hned už píchá injekci!).

U desinfekce je velice důležitý údaj o spektru účinku. Zavedený přehledný **system zkratek** se dnes už bohužel používá méně než dříve. Pořád se s ním ale můžete setkat, proto ho zde uvádíme:

- **A** – usmrcení vegetativních forem bakterií a mikroskopických kvasinkovitých hub
- **(A)** – pouhé snížení počtu vegetativních forem bakterií a mikroskopických hub
- **B** – virucidní účinek na široké spektrum virů (včetně malých neobalených virů)
- **(B)** – omezená virucidní účinnost (na obalené živočišné viry včetně HBV a HIV)
- **C** – inaktivace bakteriálních spor
- **T** – usmrcení mykobakterií komplexu *Mycobacterium tuberculosis*
- **M** – usmrcení atypických mykobakterií (původců tzv. mykobakterií)
- **V** – usmrcení vláknitých hub

U sterilizace není údaj nutný, protože z principu sterilizace musí být vždy ničeno všechno.

5.2.2 Definice jednotlivých pojmů

5.2.2.1 Sterilizace

Je to postup (obvykle fyzikální), kterým jsou **zničeny všechny mikroby** (včetně virů, hub a bakteriálních spor – o sporách však není nutno se v definici zvlášť zmiňovat).

5.2.2.2 Vyšší stupeň desinfekce

je novější pojem, který znamená "něco mezi sterilizací a desinfekcí". Tento postup na rozdíl od sterilizace nemusí zničit například cysty prvoků nebo vajíčka červů. Týká se prakticky flexibilních endoskopů, které se nedají sterilizovat.

5.2.2.3 Desinfekce

Je to chemický nebo (méně často) i fyzikální **postup, kterým se ničí původci nemocí**. Obvykle však nejsou ničeny všechny mikroby. Dobrá desinfekce je taková, která **ničí všechny patogenní mikroby, které se v daném prostředí vyskytují**. Dobrá desinfekce tedy nemusí postihovat původce tuberkulózy, pokud se v daném místě nevyskytuje. Stejně provedená desinfekce v tuberkulózní léčebně by ovšem byla desinfekcí špatnou.

5.2.2.4 Příprava před dekontaminací a uchovávání dekontaminovaných předmětů

Před dekontaminací. Chirurgické nástroje jsou často mechanicky znečištěny a musí se před desinfekcí **umýt**. Pozor! Mytí = odplavení nečistot, kdežto desinfekce = usmrcení patogenů! Mechanická očista obvykle předchází před desinfekcí. Výjimkou je desinfekce rukou kde je to naopak (jinak by se infekční částice rozprašovaly proudem vody).

Po dekontaminaci. Při použití par (formaldehydových, persterilových...) je nutno předměty řádně **odvětrat**. Je také nutno dbát na omezenou trvanlivost různých dekontaminačních postupů. Například v papírových sáčkách vydrží předměty sterilní 3 měsíce, je-li sáček uzavřen lepením, avšak jen 4 týdny, je-li uzavřen pouze sešíváčkou. To vše stanoví vyhláška.

5.2.2.5 Mechanická očista (omývání)

nemůže nahradit desinfekci, ale také naopak desinfekce nemůže nahradit omytí. Mechanické nečistoty brání prostupu desinfekčního prostředku či třeba par formaldehydu na správné místo, proto je sterilizace či desinfekce bez omytí zbytečná. Viz též "Příprava před/po dekontaminací".

5.3 Přehled nejdůležitějších dekontaminačních metod

5.3.1 Metody sterilizace

Sterilizace **horkou parou pod tlakem** (autoklávování). Pára musí být právě nasycená (to znamená, že kdyby obsahovala jen nepatrně více vody, začala by se voda srážet). Hodí se na předměty ze skla, kovu, keramiky, kameniny, porcelánu, textilu, gumy a některých plastů. Teploty kolem 121–134 °C.

Sterilizace **horkým vzduchem** (u přístrojů s nucenou cirkulací vzduchu 180 °C 20 minut nebo 170 °C 30 minut nebo 160 °C hodinu). Hodí se na kovy, sklo, porcelán a kameninu.

Sterilizace **gama zářením**: používá se pouze při průmyslové výrobě, např. rukavic na jedno použití.

Plasmová sterilizace používá vysokofrekvenční elektromagnetické pole

Chemická sterilizace parami formaldehydu nebo ethylenoxidem (musí být přesně dodržen postup). Používá se tam, kde nelze použít fyzikální metody.

5.3.2 Vyšší stupeň desinfekce

používá **glutaraldehydu**, **Sekuseptu** nebo **Persterilu**. Vyšší stupeň desinfekce slouží k ošetřování flexibilních endoskopů s vláknovou optikou.

5.3.3 Desinfekce

5.3.3.1 Fyzikální metody

Var: a) za normálního tlaku – ve zdravotnictví je nutno vařit alespoň 30 minut. V kuchyni i méně, ale jídlo se musí provařit (i uvnitř!), **b) v tlakových hrncích** – je možné zkrácení času – ani v tom případě však nejde o sterilizaci. **Jiné fyzikální metody** – filtrace, žihání, slunění, UV záření.

5.3.3.2 Desinfekční prostředky

5.3.3.2.1 Oxidační činidla

Výborné jsou **peroxydy**, zvláště *kyselina peroctová* (CH_3COOOH , u nás Persteril). Působí i na spory, houby, a tuberkulózu; 0,5% roztok spadá pod pojem vyšší stupeň desinfekce. Nevýhodou je agresivita na sliznice i materiály, např. kovy, odbarvování textilií a nestabilita roztoků.

Peroxid vodíku (H_2O_2) – podobný, méně agresivní, také ale méně účinný.

Dobré jsou i **halogenové preparáty**. Z *chlorových* je to *chloman sodný* (NaOCl), u nás Savo s všestranným použitím.

Chloramin je prášek (klasický je Chloramin B; Chloraminy BM a BS jsou s přísadami).

Jodovou tinkturou se ošetřovaly drobné rány. Dnes se spíše používá *Jodonal B*, *Jodisol* a *Betadine*, kde je jód vázán v komplexu

5.3.3.2.2 Alkoholy, fenoly a aldehydy

Formaldehyd se samotný používá spíše jako konverzační.

Ethylalkohol není příliš účinný; když už, tak nejučinnější je asi 70% vodný roztok, koncentrovaný je neúčinný. Ani zapálením etanolu není dostatečně účinné a navíc hrozí požárem.

5.3.3.2.3 Kvarterní amonné soli a tenzidy (surfaktanty, detergenty, povrchově aktivní látky)

Orthosan BF 12 k desinfekci např. povrchů

Ajatin – běžný pro desinfekci pokožky. Není agresivní a nealergizuje. Jeho účinnost nedosahuje parametrů oxidačních činidel.

Septonex se užívá na kůži, nejen jako desinficiens, ale také jako antiseptikum. Při dlouhodobém používání je ale pravděpodobně karcinogenní.

5.3.3.2.6 Kombinované přípravky

Např. Incidur, Spitaderm, Sterilium, jinak nemá smysl uvádět konkrétně, neboť se stále mění.

Nových desinfekčních prostředků se objevuje stále mnoho. Upoutávají moderními obaly a vůní, ne všechny jsou ale účinné, někdy jde vlastně jen o tekuté mýdlo a ne o desinficiens. Je vždycky potřeba zjistit konkrétní údaje o tom, k čemu se prostředek hodí, na které mikroby je účinný, v jaké koncentraci se používá. V případě pochyb se lze obrátit o radu na nejbližší hygienickou stanici či zdravotní ústav.

Téma 6 Antimikrobiální látky

6.0 Úvod

Antimikrobiální látky jsou látky určené k boji s mikroby uvnitř organismu. Na rozdíl od desinfekčních přípravků jsou to látky specificky působící na určité struktury mikrobiální buňky. Antimikrobiální látky by měly být účinné proti mikrobům a zároveň pokud možno neškodné pro člověka. Není náhodou, že k nejoblíbenějším antibiotikům patří látky útočící na bakteriální buněčnou stěnu – tedy strukturu, kterou lidské buňky vůbec nemají, a tudíž jsou pro lidské buňky tato antibiotika prakticky neškodná.

6.0.1 Přehled antimikrobiálních látek

Antibiotika – proti bakteriím, produkty bakterií nebo hub

Antibakteriální chemoterapeutika – proti bakteriím, syntetická (dnes se rozdíl mezi touto a předchozí skupinou postupně smazává)

Antituberkulóza – proti bacilům tuberkulózy (ty se hodně liší od jiných bakterií)

Antivirotika – proti virům

Antimykotika – proti houbám

Antiparazitární látky – proti parazitům

Antiseptika – k lokální léčbě různých infekcí

6.0.2 Rozdělení antimikrobiálních látek z hlediska účinku

Látky primárně mikrobicidní (u bakterií *baktericidní*) – při běžně používaných koncentracích mikroby zabíjejí. Používají se i u těžkých stavů

Látky primárně mikrobistatické (u bakterií *bakteriostatické*) – při běžně používaných koncentracích inhibují růst, zbylé mikroby pak postupně hynou

6.0.3 Názvy antimikrobiálních látek

Názvy látek jsou v těchto skriptech uváděny jako **generické**, tedy název účinné látky, a případně FIREMNÍ – název konkrétního preparátu; z firemních názvů jsou vybrány jen ty nejběžnější – například kotrimoxazol je dnes u nás registrován pod čtrnácti názvy!

6.1 Peniciliny, cefalosporiny, glykopeptidy a chinolony (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)

6.1.1 Betalaktamy I. – Peniciliny

působí na buněčnou stěnu bakterií, jsou baktericidní (bakterie zabíjejí). Nejsou téměř toxické, mohou se tedy podávat i dětem a těhotným ženám, ale mohou vyvolávat alergie. Toto vše platí i pro cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy. Vše jsou to totiž tzv. betalaktamová antibiotika (mají ve své chemické struktuře tzv. betalaktamový kruh)

6.1.1.1 Klasické peniciliny

penicilin – účinný například na infekce způsobené pyogenními streptokoky (angíny, spály, flegmony ve tkáních), ale i na řadu dalších infekcí včetně například syfilis

6.1.1.2 Protistafylokokové peniciliny

oxacilin – je určen pouze pro stafylokoky, u stafylokokových infekcí je ovšem ideální volbou

6.1.1.3 Širokospektré peniciliny

Na rozdíl od předchozích působí i na některé gramnegativní tyčinky. Nejstarší z nich je **ampicilin**. Podobný je také **amoxicilin** (AMOCLEN, DUOMOX).

6.1.1.4 Protipseudomonádové peniciliny

Jsou účinné i proti pseudomonádám a podobným bakteriím ze skupiny gramnegativních nefermentujících tyčinek. Je to například **piperacilin**.

6.1.1.5 Kombinace penicilinů s inhibitorem betalaktamáz

Význam je vysvětlen dále. Nejčastěji se jako inhibitory betalaktamáz používá kyselina klavulanová a sulbaktam. Je to např. kyselina klavulanová v kombinaci s amoxicilínem (AUGMENTIN, AMOKSIKLAV), sulbaktam v kombinaci s ampicilínem (UNASYN), kyselina klavulanová s tikarcilínem (TIMENTIN) a podobně

6.1.2 Betalaktamy II. – Cefalosporiny

jsou účinné proti G+ kokům (hlavně první generace) a G- tyčinkám (hlavně třetí generace)

6.1.2.1 Cefalosporiny I. generace:

cefalotin (injekční), **cefalexin** (CEFACLEN – tabletový). Jsou určeny hlavně pro nekomplikované močové a dýchací infekce.

6.1.2.2 Cefalosporiny II. generace:

Nejnámější je **cefuroxim axetil** (ZINNAT, ZINACEF). Oproti první generaci větší účinek na gramnegativní tyčinky.

6.1.2.3 Cefalosporiny III. generace:

Patří sem například **ceftriaxon** (ROCEPHIN, LENDACIN), vhodný mj. i k léčbě meningitid, dále **cefoperazon** (CEFOBID) či **cefotaxim** (CLAFORAN).

6.1.2.4 Cefalosporiny III. generace s inhibitorem betalaktamáz:

cefoperazon se sulbaktamem (SULPERAZON)

6.1.2.5 Cefalosporiny IV. generace:

Např. **cefepim** (MAXIPIME), jsou odolné i vůči některým typům betalaktamáz (viz dále)

6.1.3 Betalaktamy III. – Monobaktamy a karbapenemy

Mají velice široké spektrum a používají se jako rezervní, když už nic nepomáhá.

6.1.3.1 Monobaktamy

Příkladem je **aztreonam**.

6.1.3.2 Karbapenemy

příkladem je **imipenem** (TIENAM), **meropenem** (MERONEM) či **ertapenem** (INVANZ). Jako jediné z betalaktamových antibiotik jsou účinné i na bakterie produkující širokospektré betalaktamázy (viz dále). S výjimkou ertapenemu se hodí také na pseudomonády.

6.1.4 Glykopeptidy

Vankomycin a **teikoplanin** působí také hlavně na buněčnou stěnu. Jsou to rezervní antibiotika na G+ mikroby.

6.1.5 Chinolony

Působí na tvorbu bakteriální DNA. Od II. generace se nesmějí podávat dětem a dospívajícím do 15, podle některých zdrojů až do 18 let (mají zřejmě vliv na růstové chrupavky).

6.1.5.1 Chinolony I. generace

Kyselina oxolinová (DESUROL) se používala k léčbě močových infekcí.

6.1.5.2 Chinolony II. generace

Příkladem je **norfloxacín** (NOLICIN, GYRABLOCK). Je účinnější, ale přesto se na jiné než močové infekce nedoporučuje.

6.1.5.3 Chinolony III. generace

Ciprofloxacin (CIPROBAY, CIPRINOL), **ofloxacin** (TARIVID, OFLOXIN) i **pefloxacin** (ABACTAL) jsou vhodné i k léčbě systémových infekcí. V poslední době jsou velmi oblíbené a používají se i tam, kde nejsou příliš vhodné. Navíc si na ně bakterie velice rychle vytvářejí rezistenci. Podávání chinolonů tedy doporučujeme spíše omezit.

6.2 Aminoglykosidy, makrolidy, tetracykliny, linkosamidy a chloramfenikol (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)

Všechna zde zmíněná antibiotika mají společného jmenovatele, a to působení na bakteriální proteosyntézu. Působí však různými mechanismy a v různých fázích proteosyntézy. Proto jsou aminoglykosidy baktericidní, kdežto ostatní zde zmiňovaná antibiotika bakteriostatická.

6.2.1 Aminoglykosidy

poněkud ztratily na oblibě. Nevýhodou je, že jsou jedovaté pro sluch a ledviny. Některé se pro jedovatost užívají jen lokálně (**neomycin** – tvoří spolu s bacitracinem FRAMYKOIN). Patří sem např. **gentamicin**, **netilmicin** a **amikacin**. Hodí se hlavně na G- mikroby. V případě kombinace s betalaktamy lze snížit dávku a tím i jedovatost.

6.2.2 Tetracykliny

Jsou jedovaté pro játra a vyvolávají nevolnost. Nesmějí se kombinovat s alkoholem a s mlékem (vápník), ale ani s preparáty Mg, Fe a Zn. Nepodávají se u dětí do osmi let (kvůli vývoji stálých zubů), těhotných a kojících. Dnes se používají méně, ale na některé mikroby jsou pořád nejlepší. Zpravidla se už nepoužívá klasický **tetracyklin**, spíše **doxycyklin** (DEOXYMYKOIN, DOXYBENE).

6.2.3 Chloramfenikol

je jedovatý pro krvetvorbu, ale má dobrý průnik do mozkomíšního moku. Stále se ještě používá jako rezervní lék pro výjimečné případy. Lokálně se používá jako oční kapky.

6.2.4 Makrolidy

jsou účinné prakticky jen na G+ bakterie (azithromycin i na hemofily). Používají se například u mykoplazmat a chlamydií. U angín by se ale měly používat jen při alergii na peniciliny. Pacienti je ale preferují, protože se dávkuje po dvanácti nebo dokonce 24 hodinách.

6.2.4.1 I. generace:

Léčebně se již téměř nepoužívají. Patří sem **erytromycin**. Pokud je mikrob citlivý na erytromycin, je citlivý i na jiné makrolidy.

6.2.4.2 II. generace:

clarithromycin (KLACID), **roxithromycin** (RULID), **azithromycin** (SUMAMED, AZITHROX) jsou modernější preparáty. Azithromycin se někdy řadí to zvláštní skupiny tzv. *azalidů*.

6.2.5 Linkosamidy

jsou rezervní antibiotika. Celkově se používají jen v nemocnici při infekcích kostí a měkkých tkání. Patří sem **linkomycin** (LINCOCIN) a **klindamycin** (DALACIN C). Lokálně se užívají např. na akné.

6.2.6 Ostatní antibiotika a chemoterapeutika

Sulfonamidy mají omezené použití. Používá se hlavně **sulfametoxazol kombinovaný** s jiným chemoterapeutikem trimetoprimem jako **kotrimoxazol** (SEPTRIN, BISEPTOL). Při léčbě ve stravě zákaz konzumace kyselin (citron) – nebezpečí krystalizace v ledvinách.

Polymyxiny (**polymyxin B** a **colistin**) jsou značně jedovaté – ten první tak moc, že se používá pouze lokálně (v ORL). Druhý se používá zejména na rezistentní G- tyčinky.

Nitrofurantoin se používá pouze k léčbě močových infekcí. Barví moč na žluto (upozornit pacienta!)

Kyselina fusidová se používá lokálně v kožním a očním lékařství.

Rifampicin se používá pouze v kombinaci. Dnes zůstává jako rezervní a k léčbě tuberkulózy

Nová antibiotika se používají na rezistentní bakterie: oxazolidinonové antibiotikum **linezolid** proti G+ bakteriím, glycylycyklinový **tigecyklin** je vzdáleně příbuzný tetracyklinům, rýsují se další slibná léčiva.

6.2.7 Antituberkulotika

jsou např. **izoniazid** nebo **etambutol**. Vždy se používá kombinace tří nebo čtyř látek, protože některé například působí jen na bakterie mimo buňky a jiné na bakterie v buňkách. Léčba je vždy dlouhodobá.

6.2.8 Antimykotika

Imidazolová: ketokonazol (NIZORAL) či mikonazol (DAKTARIN) k celkovému, popř. i lokálnímu podání; **kotrimazol** (CANESTEN) pouze k lokálnímu podání. Ani celkově podávané léky této skupiny se nehodí k léčbě systémových mykóz.

Triazolová: flukonazol (DIFLUCAN), **itakonazol** (SPORANOX) a nový **vorikonazol** (V-FEND) mají lepší účinky a hodí se i k léčbě celkových mykóz.

Polyenová: amfotericin B – vysoce toxický, pro těžké mykózy – k celkovému podání; existuje méně toxická varianta **amfotericin B v intralipidu** (ABELCET). **Nystatin** (FUNGICIDIN) naopak slouží jen k lokálnímu podání.

Analoga pyrimidinů (látky příbuzné některým cytostatikům): **flucytosin** (ANCOTIL) – nutno vždy v kombinaci, i u dětí.

Echinokandinová, například nový caspofungin, se používají na rezistentní kmeny

6.2.9 Antivirotika

Používají se lokálně nebo celkově, a to zejména:

- **proti herpesvirům:** např. acyklovir (ZOVIRAX, HERPESIN) – lokálně i na opary rtu
- **proti chřipce:** např. amantadin či novější a účinnější oseltamivir
- **proti HIV:** např. zidovudin, další jsou nyní ve vývoji – na vývoji některých velmi účinných se podílel mj. český vědec dr. Holý

6.2.10 Antiparazitární látky

proti prvokům: nitroimidazoly – např. **metronidazol** (AVRAZOR – jeho výhodou je účinnost i na některé bakterie, zejména anaeroby, používá se s výhodou v gynekologii u smíšených bakteriálně-trichomonádových infekcí) dále **chinin** a **chlorochin** (na malárii) a spousta dalších

proti plochým červům: např. **niklosamid**

proti obléhým červům: např. **pyrvinium**

6.2.11 Antiseptika a lokální antibiotika

Mnohé oftalmologické i kožní prostředky již byly uvedeny v kapitolách o příbuzných celkově používaných látkách. Byla už řeč o bacitracinu s neomycinem (FRAMYKOIN) a kyselině fusidové (FUCIDIN). Dále se používá **mupirocin** (BACTROBAN Jsou ale také látky, které se jinak používají k dezinfekci: například JODONAL B, JODISOL, **peroxid vodíku**, nebo **chlorhexidin**.

6.2.12 Mechanismus účinku, vylučování, toxicita – přehled

Působí na:			vylučování	Toxicita:
buněčnou stěnu	Peniciliny	baktericidní	převážně močí (u jednotlivých se může lišit)	nepatrná, zato mohou vyvolávat alergie
	Cefalosporiny			
	Nové β-laktamy			
syntézu proteinů	Vankomycin		vylučování převážně žlučí	značná – ušní, močová, popř. nervová
	Aminoglykosidy			játra, trávení. Ne do 8 let (zuby!)
	Tetracykliny	bakteriostatické		malá (játra, trávení)
	Makrolidy			malá (trávicí obtíže)
	Linkosamidy			

	Chloramfenikol		vylučování převážně ledvinami	!!krvetvorba, trávicí, nervový
nukleové kyseliny	Chinolony	baktericidní		malá, trávicí, CNS Ne do 18 let!
cytoplasmatickou membránu	Polymyxiny			velká: nervy, močový systém
metabolismus	Sulfonamidy	bakteriostatické		ledviny, GIT a jiné

6.3 Primární a sekundární rezistence mikrobů, ESBL, MRSA, VRE a jejich význam. Antibiotická střediska

6.3.1 Primární a sekundární rezistence

6.3.1.1 Primární rezistence

je **společná vždy všem kmenům daného druhu**. Je zpravidla dána tím, že stavba mikroorganismu vylučuje, aby na něj dané antibiotikum působilo.

6.3.1.2 Sekundární (získaná) rezistence

se **vyskytuje jen u některých kmenů**. Z toho také plyne, že není předvídatelná a musíme ji zjišťovat u každého kmene zvlášť. Sekundární rezistence se nevyskytují pořád stejně často – čím více se používají antibiotika (tzv. selekční tlak), tím víc rezistentních kmenů se vyskytuje.

6.3.2 Příklady mechanismů rezistence

Znehodnocení antibiotika ještě než vnikne do buňky (rozštěpení důležité části molekuly, navázání bočního řetězce, který mění antibiotikum v neúčinný metabolit, apod.)

Nevpuštění antibiotika do buňky, například změnou cytoplasmatické membrány

Změnou cílového místa pro působení antibiotika

6.3.3 Betalaktamázy a jejich inhibitory

Asi nejnámějším i nejvýznamnějším příkladem faktoru rezistence jsou různé typy **betalaktamáz** – jsou to enzymy, které produkují nejrůznější typy baktérií. Betalaktamázy štěpí betalaktamový kruh penicilinových, cefalosporinových a ostatních betalaktamových antibiotik – většinou ale jen některých z nich.

Pro překonání některých typů betalaktamáz se používají takzvané **inhibitory betalaktamázy**.

Inhibitor betalaktamázy je „falešné antibiotikum“ – málo účinná betalaktamová látka, která je však silně atraktivní pro betalaktamázy. Betalaktamáza se vysyť tím, že rozštěpí betalaktamový kruh inhibitoru, zatímco skutečné účinné antibiotikum zůstává nepoškozené a může působit.

Nejběžnějšími kombinacemi antibiotika + inhibitoru betalaktamázy jsou amoxicilin + kyselina klavulanová, ampicilin + sulbaktam, tikarcilin + kyselina klavulanová, cefoperazon + sulbaktam.

6.3.4 Některé významné typy polyrezistentních kmenů, způsobující často nemocniční infekce

6.3.4.1 MRSA – methicilin rezistentní stafylokoky.

Kvůli změně cytoplasmatické membrány nepouštějí tyto bakterie do svých buněk. Mnohé MRSA jsou rezistentní také na další antibiotika (makrolidy, linkosamidy) a pak už k léčbě zůstávají prakticky jen velmi drahé a toxické glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin).

6.3.4.2 VRE – vankomycin rezistentní enterokoky.

Kmeny enterokoků, které jsou necitlivé na glykopeptidy a zpravidla nejsou citlivé ani na většinu ostatních antibiotik

6.3.4.3 Producenti ESBL

Jde o gramnegativní bakterie (enterobakterie a gramnegativní nefermentující bakterie), které produkují takzvané širokospektré betalaktamázy. Zejména kvůli jejich existenci je potřeba vyhýbat se zbytečnému užívání širokospektrých antibiotik.

6.3.5 Antibiotická střediska a „antibiotická politika“

Antibiotická střediska jsou důležitou součástí každé větší nemocnice. Klinickým pracovníkům poskytují komplexnímu poradenství, jaké antibiotikum je v které situaci nejvhodnější. Zároveň mají antibiotická střediska pravomoc odmítat předepisování léků, které z různých důvodů vhodné nejsou – třeba proto, že by hrozilo šíření rezistentních kmenů.

6.4 Kvalitativní a kvantitativní testy citlivosti na antibakteriální látky, význam MIC

6.4.1 Pojem MIC

MIC – minimální inhibiční koncentrace. Jedná se o koncentraci, při které se bakterie přestanou množit.

MBC – minimální baktericidní koncentrace. Při této koncentraci jsou bakterie (či analogicky jiné mikroby) usmrceny.

U **primárně baktericidních** antibiotik je MIC a MBC prakticky totožná, tj. téměř se nestává, že by bakterie nerostly, ale přitom nebyly usmrceny.

Naopak u **primárně bakteriostatických** antibiotik je MBC velmi vysoká, mnohem vyšší než MIC. Pro praxi tedy u těchto antibiotik používáme koncentrací, které jsou jen bakteriostatické.

6.4.2 Metody zjišťování citlivosti

Zjišťovat citlivost in vitro (= v laboratoři) je vhodné u většiny nálezů patogenních bakterií, pokud se dají kultivovat. Je sice třeba brát v úvahu, že laboratorní výsledky nemusí z různých důvodů stoprocentně souhlasit s výsledky u pacienta, ale přesto je testování in vitro zpravidla mnohem lepší, než nedělat nic.

6.4.3 Difúzní diskový test

Na Müllerův-Hintonové agar (nebo jiný agar) se štětičkou plošně naočkuje suspenze bakterie. Pak se nanáší tzv. **antibiotické disky** – papírky napuštěné antibiotikem. Pokud mikrob roste až k disku, je rezistentní (necitlivý). Pokud je kolem disku zóna citlivosti, v níž mikrob neroste, a je větší než předepsaná, je citlivý.

6.4.4 E-testy

Jsou to podobné testy, ale místo disku se použije proužek se stoupající koncentrací antibiotika od jednoho konce proužku ke druhému. Antibiotikum opět difunduje, ale zóna tu není kruhová, ale vejčitá. Na rozdíl od předchozího testu se E-testem dá určit MIC (minimální inhibiční koncentrace – tedy nejnižší koncentrace, která zastavuje růst mikroba). Odečítání je jednoduché – na papírku je stupnice, a MIC se odečítá v místě, kde okraj zóny kříží papírek.

6.4.5 Mikrodiluční test

Antibiotikum je v řadě důlků v plastové destičce v klesající koncentraci. Nejnižší koncentrace, která inhibuje růst, je MIC. Jedna destička se zpravidla použije pro jeden kmen – testování např. 12 antibiotik, každé v 8 různých koncentracích. Pokud například v koncentracích 0,25–0,5–1–2 je přítomen zákal a v koncentracích 4–8–16–32 (vše v mg/l) zákal není, říkáme, že koncentrace 4 mg/l a vyšší jsou inhibiční – tedy koncentrace 4 mg/l je minimální inhibiční koncentrace (MIC). Pokud důlky bez zákalu (tj. s inhibicí) vyočujeme do půdy bez antibiotika, můžeme pozorovat, jestli bakterie byly pouze inhibovány, nebo usmrceny. Tím zjistíme hodnotu MBC. Tento postup se ale v praxi používá výjimečně.

Mikrodiluční test se používá místo difusního diskového testu zejména u pacientů těžce nemocných, v ohrožení života.

6.4.6 Zjišťování faktorů rezistence

Ne vždycky stačí výše uvedené zjišťování citlivosti či rezistence na antibiotika. Někdy je lépe speciálními metodami zjišťovat **přítomnost konkrétních faktorů rezistence**, např. betalaktamáz. Může se jednat o diagnostické proužky (chemický průkaz daného enzymu) nebo testy na jiném principu. Tímto způsobem se prokazují zejména různé typy betalaktamáz.

Téma 7 Základy imunologie

7.0 Úvod

Obranyschopnost organismu zajišťují jednak anatomické bariéry (kůže, sliznice), jednak fyziologické mechanismy, a jednak vlastní imunitní systém.

Imunitní systém spolu s nervovým a hormonálním udržuje rovnovážný stav organismu – homeostázu. Rozlišuje vlastní od cizího a cizí se snaží eliminovat.

Imunita se dá rozdělit na nespecifickou (vrozenou, zaměřenou všeobecně) a specifickou (získanou během života, zaměřenou proti konkrétnímu mikrobu, resp. jinému nežádoucímu vlivu). Obě spolu souvisejí: tam, kde se uplatňuje specifická imunita, dojde vždycky zároveň k vybudování nespecifické. Jak specifická, tak i nespecifická imunita se dá rozdělit na buněčnou (s cizorodým materiálem se potýká přímo buňka) a humorální (buňka tvoří chemické látky, a právě tyto látky ničí cizorodé agens.)

7.1 Anatomické bariéry a fyziologické mechanismy

7.1.1 Anatomické bariéry

Kůže a sliznice tvoří přirozené anatomické bariéry.

Kůže je neprostupná pro naprostou většinu mikrobů. **Neporušenou kůží** může pronikat jen málo organismů. Z bakterií jsou to např. leptospiry, kromě nich už jen některá stádia parazitů. Pokud už jsou v kůži **trhlinky**, může pronikat například původce tularemie, zlaté stafylokoky, pyogenní streptokoky, ale také *Bacillus anthracis*, tedy původce sněti slezinné, a dále některé viry a houby. K porušení kůže dojde při **bodnutí** členovce (klíšřová encefalitida, borrelióza, malárie, mor aj.), při **úrazu** (infekce ran, např. stafylokoky), při **kousnutí** (vzteklina, pasteurelová infekce) a při **popálení** (pseudomonády). K porušení kůže také samozřejmě dochází při **medicínských zákrocích** od odběru krve až po náročnou operaci. Proto je bezpodmínečně nutné pokaždé, když porušujeme integritu kůže, bezpodmínečně zachovávat zásady asepse.

Sliznice jsou daleko prostupnější. Proto většina infekce má jednotlivé sliznice jako určité brány vstupu: **sliznici dýchacích cest** si vybírají nejen respirační viry, ale i např. viry spalniček, zarděnek apod. **Sliznici trávicích cest** si vybírají původci střevních infekcí, ale i např. virus dětské obrny. **Sliznice močových cest a pohlavních orgánů** může být vstupní branou nejen lokalizovaných infekcí (třeba kapavky), ale i celkových (třeba AIDS). Další infekce mohou pronikat například **spojivkovým vakem** (opět kapavka, stafylokokové infekce a mnohé další).

Další bariéry jsou **uvnitř organismu**, především **hematoencefalická bariéra**. Ta slouží k tomu, aby mikrob, který už pronikl do organismu, nemohl proniknout do CNS. Tato anatomická bariéra ovšem bohužel také poněkud kombinuje léčbu, protože ztěžuje nejen průnik mikrobů, ale také antibiotik. Proto je nutno k léčbě zánětů mozkových blan vybírat taková antibiotika, která hematoencefalickou bariérou pronikají.

7.1.2 Fyziologické mechanismy

Mezi fyziologické mechanismy se dá počítat všechno, co škodlivé mikroby vypuzuje z těla, případně je ničí. Uplatnění fyziologických mechanismů je v řadě případů spojeno se systémy nespecifické imunity. U všech sliznic se na obraně podílí samotná skladba sliznice, která omezuje schopnost mikrobů adherovat. Jednotlivé sliznice však navíc mají své vlastní mechanismy, kterými se brání infekci.

7.1.2.1 Dýchací cesty

V dýchacích cestách se uplatňuje neustálé **kmitání řasinek**, které vypuzují z dýchacích cest nejen mikroorganismy, ale i prachové částice, zkrátka vše, co by jinak mohlo proniknout do plicních sklípků a oslabit tím jejich funkci. Mimo to se uplatňuje **smrkání, kýchání a kašel**, a to zejména v případě, kdy již došlo k infekci. Pokud těmito mechanismy dochází k vypuzování

hlenohnisu a bakterií, je to v pořádku a není dobré kašel či kýchání tlumit. Proto také pacienti s produktivním kašlem mají užívat expektorancia, která podporují vykašlávání hlenů, a nikoli antitusika, která kašel tlumí. Jiná situace je u neproduktivního kašle, který už není obranným mechanismem hostitelského organismu, ale spíše nástrojem, pomocí kterého mikroby hostitelský mechanismus oslabují. Zde jsou antitusika na místě.

7.1.2.2 Trávicí cesty

Problematickým místem je dutina ústní, zejména místo přechodu mezi zubem a dásní. Velkou roli zde hraje složení **vícdruhového mikrobiálního biofilmu**, který zahrnuje jak bakterie škodlivé, tak i neškodné či možná dokonce prospěšné. Imunologie ústní dutiny je velmi složitá a dodnes je zde mnoho věcí nejasných.

Dobrým nástrojem ochrany trávicích cest je **produkce kyseliny chlorovodíkové** v žaludku. Tato produkce je regulována neurohumorálními mechanismy a její poruchy mohou být spojeny např. i se stresem. S trochou nadsázky tedy lze říci, že k prevenci trávicích infekcí patří i dobrá psychická pohoda.

Účinným mechanismem je také samotná **sřevní peristaltika**, která omezuje možnosti mikrobů uchytit se na určitém místě sliznice.

Při infekci se tělo brání jednak **zvracením**, jednak **průjmem**. Podobně jako u kašle zde platí, že zvracení a průjem není dobré tlumit (např. preparáty typu Reasec), ledaže jde o úporný průjem, který je již spíše důsledkem zlovůle mikroorganismu než nástrojem obrany lidského těla, případně o průjem evidentně neinfekční.

Na obraně střeva před infekcí se také podílí přítomnost normální mikroflóry, která neumožňuje usídlení patogenních organismů.

7.1.2.3 Močové cesty a mužské pohlavní orgány

V případě ochrany močových cest (a u muže také prostaty a varlat) před infekcí je neúčinnější samotný **proud moče**, který vyplaví mikroby z močových cest. Významným faktorem je přitom délka močové trubice, která je větší u mužů, díky čemuž je u mužů menší frekvence zánětů močového měchýře. Oslabení proudu moče ve vyšším věku (u žen oslabení svaloviny pánevního dna po porodech, u mužů hyperplazie prostaty) se projevuje zvýšenou frekvencí infekcí močových cest. V některých případech však může dojít k tomu, že infekce postupně přejde do bezpříznakové kolonizace, a dokonce tak vlastně vzniká mikroflóra, která neumožňuje vniknutí dalších patogenů.

7.1.2.4 Pochva

Pochva představuje velmi složitý ekosystém. Na ochraně tohoto ekosystému před vetřelci se podílí jednak **normální mikroflóra** (zejména laktobacily, jejichž bakteriociny neumožňují usídlení jiných organismů) a jednak také **nízké pH**; platí přitom, že přítomnost laktobacilů je na nízké pH vázána a naopak že pH je udržováno mimo jiné i díky činnosti laktobacilů. Poševní ekosystém je ovšem poměrně zranitelný a ovlivnitelný **hormonálními vlivy** (zejména pokud jde o pohlavní hormony), **výživou** apod.

7.1.2.5 Ostatní

Oči jsou chráněny **produkcí slz** a **kmitáním řas**, uši **produkcí mazu**.

Existují také celkové ochranné mechanismy, např. **horečka**, kde opět platí pravidlo – netlumit, dokud není reakce přemrštěná. Horečka (či zvýšená teplota) je však již přímým důsledkem fungování mechanismů nespecifické imunity (viz kapitola 5.2).

7.2 Nespecifická imunita

7.2.1 Buněčná složka

Tuto složku tvoří různé typy bílých krvinek – vlastně všechny kromě lymfocytů, které patří k imunitě specifické. Navíc sem patří některé tkáňové buňky, které jsou bílým krvinkám podobné. Všechny se podílejí na pohlcování cizorodých materiálů, hlavně mikrobů. I když patří do nespecifické imunity, spolupracují i s protilátkami a lymfocyty ze specifické imunity.

7.2.1.1 Neutrofilly

Je jich nejvíc, Jejich životnost je krátká. Nedělí se, pro doplnění počtu musí "uzrát" nové.

7.2.1.2 Monocyty a makrofágy

Monocyty se nacházejí v periferní krvi, makrofágy ve tkáních). Na rozdíl od neutrofilů mají dlouhou životnost a mohou se dělit.

7.2.1.3 Eozinofily

Jsou zmnoženy u některých typů alergie a u napadení těla červy.

7.2.1.4 Bazofily a mastocyty

Bazofily se nacházejí v krvi, mastocyty ve tkáních. Po aktivaci (kontaktu s cizorodým materiálem) uvolňují histamin a jiné látky.

7.2.1.5 Lymfocyty: NK-buňky

Název pochází z anglického „natural killer“. Na rozdíl od většiny jiných typů lymfocytů NK-buňky přímo, bez imunizace zabíjejí cizorodé nebo i vlastní, ale "zvrhlé" buňky (nádorové, nakažené).

7.2.2 Humorální – látková složka

Vedle buněčné složky se na nespecifické imunitě podílí i řada chemických látek. Většina z nich je ovšem produkována právě bílými krvinkami. Buněčná a humorální složka tedy v praxi není oddělitelná a vždy fungují obě společně.

- **Komplement** je složitý systém. Jeho složky se označují jako C1 až C9, některé složky ale mají více částí, a s funkcí komplementu souvisejí i další bílkoviny. Složky komplementu celkem tvoří asi 7–10 % sérových globulinů, hlavně z beta-fračky. Komplement může být aktivován nespecificky (pomalu) nebo pomocí protilátek (rychle). Druhá možnost již předpokládá, že je zároveň aktivní i specifická část imunity. V případě druhé možnosti se aktivují jiné složky než v případě možnosti první. Funkce komplementu:
 - **chemotaxe** – "přilákání" bakterií
 - **opsonizace** – "ochucení" bakterií, aby "chutnaly" leukocytům
 - **podíl na ničení bakterií** a jiných cizorodých faktorů
- **Interleukiny** jsou produkovány různými leukocyty po kontaktu s cizorodým materiálem, mnoho typů. Funkce interleukinů:
 - **horečka** (protože zvýšená teplota ničí některé mikroby, zejména viry)
 - **mobilizace některých hormonů** a naopak utlumení těch, které nejsou při infekci potřeba
 - spousta **dalších vlivů** na chování makroorganismu
- **Lymfokiny** – produkovány některými lymfocyty. Funkce lymfokinů:
 - **"přilákání" a aktivace buněk**, zodpovědných za zánět (neutrofilly, makrofágy)
 - podpora **množení aktivovaných lymfocytů**
- **Interferony** – účinné proti virům a některým nádorům (používají se i léčebně)
- **Histamin** a další látky uvolňované bazofily se podílejí na rozvoji takzvaných atopických příznaků – rýma, astma, kopřivka. Projevuje se tedy hlavně u alergií.

7.3 Specifická imunita

7.3.1 Lymfocyty

Specifická imunita souvisí především s lymfocyty. Ty vznikají v kostní dřeni, vyskytují se hlavně v mizních uzlinách a slezině, při kontaktu s cizorodým materiálem se začnou mohutně množit

7.3.1.1 T-lymfocyty

Zrají částečně v brzlíku – jsou zodpovědné za buněčnou imunitu

7.3.1.2 B-lymfocyty a plasmatické buňky

B-lymfocyty v krvi a plasmatické buňky v lymfoidních tkáních – produkuje protilátky specificky proti "svým" antigenům (viz dále)

7.3.2 Antigeny

Antigen je cizorodá struktura, která vyvolává tvorbu protilátek (viz dále). Je to vždy makromolekula (bílkoviny, polysacharidy, nukleové kyseliny); malé molekuly jsou antigenní jen po navázání na makromolekulu.

Příklady antigenů:

- **mikrobiální antigeny** (různé povrchové struktury mikrobů – bílkoviny, polysacharidy apod.)
- **alergeny** – antigeny ze zevního prostředí, které vyvolávají přecitlivělost
- **autoantigeny** – vlastní antigeny, které se změnily a imunitní systém je přestal tolerovat
- **nádorové markery** – změněné znaky na nádorových buňkách
- **histokompatibilní (HLA)** – antigenní znaky na vlastních buňkách, význam při transplantacích, určení otcovství. Organismus jimi rozeznává "svoje" od "cizího"
- podobně **antigeny na erythrocytech** rozhodují o krevních skupinách

7.3.3 Protilátky

Protilátky jsou gama globuliny. Jsou přítomny v séru a v menší míře i ve tkáních. Jsou produkovány B-lymfocyty. Protilátka se vždy vytváří jako odezva makroorganismu na podráždění určitým mikrobenem. O využití protilátek v diagnostice bylo psáno v druhé kapitole.

7.3.3.1 Účinky protilátek

1. přímé zneškodnění – možné jen u virů a bakteriálních jedů, ne však u celých bakterií,
2. opsonizace ("ochucení" bakterií),
3. posílení funkce komplementu

7.3.3.2 Třídy protilátek:

- **IgG** – největší část protilátek, začínou se tvořit později, ale po prodělané infekci zůstává celoživotně určitá hladina IgG proti danému mikrobu; zvýšená hladina ukazuje na chronickou infekci; procházejí placentou
- **IgM** – velká molekula, placentou neprocházejí; tvoří se jako první při infekci i očkování; zvýšená hladina ukazuje na čerstvou infekci, nepřetrvává dlouho
- **IgA** – hlavně na sliznicích (slizniční imunita)
- **IgD** – stopová množství, funkce málo známá
- **IgE** – souvisí s přecitlivělostí (alergií)

Při narození má novorozenec nejprve IgG od matky, pak si sám začne tvořit své vlastní IgG a pak teprve i IgM

7.3.4 Lymfoidní tkáň

Jsou to tkáň, ve kterých se vyskytují ze zvýšené míře lymfocyty a další bílé krvinky.

- **lymfatické uzliny, slezina** – obsahují hlavně T-lymfocyty a plasmatické buňky
- **roztrošené lymfoidní tkáň** všude ve sliznicích, někde méně, někde (červovitý výběžek slepého střeva) více
- pro imunitu nepostradatelná **játra**

7.3.5 Protinádorová imunita

Je to buňkami zprostředkovaná imunita. Podílejí se na ní zejména NK-buňky a interferon

7.4. Poruchy imunity

7.4.1 Imunodeficity

U imunodeficitů některé složky imunitního systému chybějí nebo jsou defektní. Klinicky významné poruchy imunity jsou vrozené nebo získané

7.4.1.1 Deficity nespecifické buněčné imunity

Jsou to hlavně deficity různých bílých krvinek kromě lymfocytů. Je u nich sklon ke kožním infekcím a abscesům. **Léčba:** transfúze leukocytárních koncentrátů

7.4.1.2 Deficity nespecifické humorální imunity

Jde hlavně o deficit komplementu. Je tu sklon k bakteriálním infekcím. **Léčba:** mražená plazma (obsahuje komplement)

7.4.1.3 Deficity specifické buněčné imunity (T-lymfocytů)

Představují sklon k infekcím virovým, parazitárním, plísňovým, tuberkulóze. Do této skupiny patří i AIDS. **Léčba:** záleží na příčině, u AIDS je primární antivirotická léčba.

7.4.1.4. Deficity specifické humorální (=protilátkové) imunity

Chybí některé imunoglobuliny, je sklon ke všem infekcím, hlavně bakteriálním. **Léčba:** pacientovi se dodají čištěné imunoglobuliny, nejlépe lidské.

7.4.2 Imunologická přecitlivělost

Je to chorobný stav nadměrné imunity.

7.4.2.1 Alergie časného typu – atopická onemocnění

Projevují se po kontaktu s alergenem (pyl, prach, roztoči, chlad, plísně, potraviny). Uvolní se IgE, histamin a látky rozšiřující cévy. Projevy mohou být různé, i podle typu kontaktu:

- **alergická rýma**
- **atopické astma** ("záducha" v průduškách)
- **atopická dermatitida** (kopřivka)
- **průjmy, zvracení, bolesti břicha**
- **anafylaktický šok** – nejzávažnější, při proniknutí alergenu do krev. oběhu např. injekce cizorodého séra, antibiotika, včelí bodnutí; místní reakce: otok, celková reakce: pokles TK, dušnost při otoku dýchacích cest; léčba: adrenalin, kortikoidy, antihistaminika, (Claritin, Zaditen, Dithiaden), vyhýbat se alergenu

7.4.2.2 Přecitlivělost pozdního typu

Souvisí s buněčnou imunitou. Po setkání se známým antigenem se projeví se zpožděním (24–48 h). Chorobné projevy zahrnují neinfekční záněty kůže – např. po některých kovech a chemikáliích – a také odvrhnutí štěpu (někdy až po letech). Využitím této přecitlivělosti je tuberkulínová zkouška.

7.4.2.3 Přecitlivělost cytotoxická a imunokomplexová

Buňky jsou poškozeny specifickými protilátkami a jejich komplexy s antigenem (imunokomplexy) – např. transfúzní reakce, sérová nemoc, hemolytické anémie

7.4.2.4 Přecitlivělost stimulační

Je to přecitlivělost vyvolává nadprodukcí některých hormonů (např. štítné žlázy)

7.4.3 Nemoci z autoimunity

Nejde zde ani o nedostatečnou, ani o přemrštěnou imunitu, ale o stav, kdy je porušena tolerance vlastních antigenů. Například jsou to různé krvácivé a revmatické nemoci.

7.4.4 Vyšetřování v imunologické laboratoři

Pro kontrolu stavu imunity se používají různá imunologická vyšetření. Zde je možno podat jen základní přehled těchto vyšetření.

- Počty, druhové rozdělení a funkčnost různých **typů bílých krvinek**, včetně nejrůznějších podtypů lymfocytů a jejich poměrů. Vzorkem je v tomto případě zpravidla nesrážlivá krev v EDTA.
- Hladiny **různých složek humorální imunity** (specifické i nespecifické). Zde se posílá zpravidla srážlivá krev.
- **Kožní testy na alergeny** – spadá do oblasti alergologie, která na imunologii úzce navazuje. Test se provádí přímo na kůži pacienta.

7.5 Imunoterapie (léčení imunopreparáty)

Imunoterapie zahrnuje veškeré použití imunologicky aktivních preparátů. Používá se k profylaxi, prevenci i léčení chorob. Patří sem

- **Imunizace** – viz dále
- **Imunosuprese** – potlačení imunitních reakcí – u nadměrné nebo špatné imunity
- **Imunostimulace** – povzbuzení nedostatečné imunity
- **Desenzibilizace** – podávají se mikrodávky antigenu, aby si na něj organismus "zvykl" a nereagoval přehnaně; dávky se postupně zvyšují

7.5.1 Umělá imunizace – úvod

Umělou imunizaci dělíme na dvě skupiny.

Aktivní imunizace = očkování; do organismu je vnesena očkovací látka, obsahující antigen. Tělo je antigenem "vyprovokováno" a vytváří protilátky.

Pasivní imunizace: do organismu jsou vneseny už hotové protilátky nebo sérum, které je obsahuje. Jenže protilátky od cizího člověka (natož od zvířete) nikdy nejsou stejné, a v těle fungují méně účinně než vlastní.

Představte si hladového muže na břehu řeky. Jak mu nejlépe pomoci? Když mu nachytáte ryby, nasytíte ho hned, ale až ryby sní, bude mít zase hlad. Když ho naučíte ryby chytat, bude se umět nasytit celý zbytek života. Zato to bude chvíli trvat. První postup připomíná pasivní imunizaci, druhý aktivní; oba mají výhody a nevýhody; někdy je potřeba obě metody zkombinovat (podat protilátku i antigen).

7.5.2 Aktivní imunizace – očkování

U aktivní imunizace je důležité, aby očkovací látka obsahovala antigen, schopný vyprovokovat tvorbu protilátek, a přitom aby podání očkovací látky nevyvolávalo příslušnou nemoc.

7.5.2.1 Očkovací látky proti bakteriálním nákazám

- **Očkování živými bakteriemi** se provádí u tuberkulózy. Očkování se provádí ihned po narození a nepřeočkovává se, jen se kontroluje stav imunity (tzv. tuberkulínovým testem).
- **Bakteriny** – celé usmrcené bakterie. Používaly se u očkování proti černému kašli.
- **Anatoxiny neboli toxoidy** se používají tam, kde bakterie škodí hlavně prostřednictvím toxinů (jedů). Anatoxin je vlastně jed zbavený jedovatosti (toxicity), který si zachovává antigenní působení. Např. tetanus a záškrť.
- **Čištěné povrchové antigeny** (např. polysacharidové), např. *Haemophilus influenzae b*, *Neisseria meningitidis* aj.
- **Rekombinantní vakcíny** se vyrábějí tak, že se gen pro bílkovinu, která má funkci antigenu, vloží do genomu vhodného nosiče (například *Escherichie coli*).

7.5.2.2 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
- **Usmrcený virus** – virus je vypěstován a poté usmrcen, nejčastěji formaldehydem. Klíšťová encefalitida, žloutenka A, dětská obrna – Salkova vakcína (nyní používána místo Sabinovy)
- **Chemovakcíny** – antigen byl získán chemickou cestou (rekombinací DNA). Např. látka Engerix proti hepatitidě B.

7.5.2.5 Očkování v praxi

7.5.2.5.1 Očkování očkovacího kalendáře

Některá očkování jsou povinná po všechny, obvykle děti v předškolním věku.

- **Očkovací látky proti bakteriálním infekcím**
 - **Záškrť** (jde především o difterický toxin)
 - **Tetanus** (opět se jedná hlavně o jeho toxin)
 - **Dávivý kašel**

- *Haemophilus influenzae b*
- **Očkovací látky proti virovým infekcím**
 - **Spalničky**
 - **Zarděnky**
 - **Příušnice**
 - **Žloutenka** (hepatitida) typu B
 - **Dětská obrna** (donesdávna perorální živá Sabinova vakcína, dnes usmrcená Salkova, podávaná injekčně, obvykle v rámci hexavakcíny)

Zpravidla se k prvnímu očkování používá hexavakcína, obsahující očkovací látku proti záškrtu, tetanu, dávivému kašli, dětské obrně, hemofilům a žloutence typu B. Později se očkuje

7.5.2.5.2 Očkování mimo očkovací kalendář

Vedle všeobecně povinných očkování existují ještě další (povinná nebo doporučená):

- očkování, která **nejsou povinná, ale jsou hrazená**: očkování proti pneumokokům a očkování proti lidským papilomavirům u třináctiletých dívek
- pro určité **profese** (zdravotníci – žloutenka B v dospělosti)
- pro osoby cestující **do zahraničí** (tyfus, cholera, ale i třeba žloutenka A); vhodnost těchto očkovacích látek je vždy nutno pečlivě posoudit, zpravidla je dobré obrátit se na odborníky v oblasti cestovní či tropické medicíny
- očkování **rizikových skupin** – sem dnes patří i dříve povinné očkování proti tuberkulóze, které se dnes provádí jen výběrově u dětí s rizikem
- k **profylaxi** zejména u vztekliny (k riziku už došlo, není to tedy prevence).
- nadstandardní očkování, která si zájemci musí **zaplatit**, např. vakcína proti viru klíšťové encefalitidy (nebo jim je zaplatí zaměstnavatel, třeba lesní závod).
- speciální očkovací látky k **cílenému předcházení nebo i léčbě** některých závažných onemocnění.

7.5.3 Pasivní imunizace

Pasivní imunizace se používá k léčbě a k profylaxi (pojem profylaxe viz výše).

Nespecifická séra (NORGA = Normální Gamaglobulin) k nitrosvalové a IVEGA či NIGA k nitrožilní aplikaci) jsou získána z krve mnoha dárců, takže by měla obsahovat protilátky proti všem běžným chorobám. Obsahují ovšem také řadu jiných bílkovin, které mohou imunitní systém spíše narušit. Proto se s jejich používáním čím dál více váhá.

Ze **specifických protilátek** (tj. proti konkrétní chorobě) se užívá TEGA (proti tetanu), HEPAGA – proti hepatitidě B, globuliny proti botulismu (BOSEA), plynaté sněti (GASEA) a stafylokokovým infekcím (STASEA).

Téma 8 Systémové a závažné orgánové infekce

8.1 Etiologie a diagnostika sepsí a endokarditid

8.1.1. Důležité pojmy:

Infekce krevního řečiště – infekce cév jako systému, zahrnuje **seps** a **endokarditidy** (záněty mikroblány srdeční, mikroby jsou ovšem vždy přítomny v celém krevním řečišti)

Seps – klinicky (a mikrobiologicky) definovaná jednotka; bakterie = spouštěcí mechanismus seps. Ne vždy jsou u seps bakterie prokázány, naopak ne každá bakteriémie je seps.

Bakteriémie – pouhé konstatování přítomnosti bakterií v krvi (neřeší se význam)

Pseudobakteriémie – případ, kdy bakteriologické kultivace krve je pozitivní, ale přitom nejde ani o bakteriémii, natož o sepsi. Zpravidla je příčinou kontaminace na kterékoli úrovni

Septický syndrom = systémová zánětlivá reakce organismu na infekci krevního řečiště. Jeho součástí také může být **septický šok**.

8.1.2 Klinická charakteristika seps

8.1.2.1 Klinická charakteristika seps:

- Horečka nebo hypotermie; často se vysoké horečky s hypotermií střídají
- Tachykardie
- Snížený krevní tlak
- Různé další znaky (zmatenost, nechutenství, může být i žloutenka aj.)

8.1.3 Typy bakteriémie

8.1.3.1 Intermitentní (přechodná) u lokalizovaných orgánových infekcí:

Jsou to případy, kdy bakterie **primárně nehledá krevní řečiště, ale některý z vnitřních orgánů**. Mohou to být např. **pneumonie** (pneumokoky), **meningitidy** (meningokoky), **pyelonefritidy** (*Escherichia coli*) apod. Z intermitentních se ale mohou vyvinout i stálé bakteriémie.

8.1.3.2 Kontinuální (stálá) u celkových infekcí:

Primárně jde zpravidla o klasické obligátní patogeny, jejichž význam v dnešní době ubývá.

Sekundárně může jít o bakterie z kapitoly 8.1.3.1.

8.1.3.3 Bakteriémie při infekcích uvnitř krevního řečiště:

Může jít o **tromboflebitidy** (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*), **akutní endokarditidy** (tytéž dva a navíc pneumokok, gonokok), **subakutní endokarditidy**, tzv. sepsis lenta (viridující streptokoky, enterokoky) apod.

8.1.4 Některé zvláštní případy seps

Fulminantní seps – seps s překotným průběhem, typické pro meningokoky

Nozokomiální (nemocniční) seps – zvláštní případ nemocniční infekce. Často jde o tzv.

katetrové seps, kdy infekce pochází z kolonizovaného žilního katetru. Bakterie zde tvoří biofilm a postupně se z něj uvolňují. Více v kapitole o nozokomiálních infekcích.

8.1.5 Odběr krve – hemokultury

8.1.5.1 Kdy a jak odebírat

Hemokultury by se měly odebírat pokud možno **tří**, při vzestupu tělesné teploty pacienta. Odběr musí být přísně sterilní, nesmí být kontaminován z kůže. Dnes se hemokultury odebírají prakticky vždy do **lahviček pro automatickou kultivaci**, které obsahují nejen protisrážlivou tekutinu, ale i přímo kultivační médium. I když má pacient zavedené vstupy do krevního řečiště (například centrální žilní katetr), měla by být aspoň jedna hemokultura odebrána z nového napíchnutí žíly. Tím se zajistí, že zachytíme opravdu bakterie z krevního řečiště a ne z toho vstupu.

8.1.5.2 Jak označit průvodku

U hemokultur musí být bezpodmínečně vždy uvedeno nejen **datum**, ale i **přesný čas odběru**.

Také musí být uvedeno **místo odběru**, tj., zda jde o krev z venepunkce, žilního vstupu na periferní či centrální žíle a podobně.

8.1.5.3 Průběh hemokultivace

Lahvičky se po přijetí vloží do **hemokultivačního automatu**. Tento automat má schopnost indikovat pozitivitu, například na základě změny pH či zánadu média. V případě positivity se dělá mikroskopie a vyočkování na půdy.

8.1.5.4 Interpretace nálezů

Podle toho, zda byly pozitivní všechny odebrané hemokultury nebo jen některé, za jak dlouho automat hlásil pozitivitu apod. se interpretuje nález jako pravděpodobná bakteriémie nebo pseudobakteriémie.

8.2 Infekční hepatitidy a AIDS

V těchto skriptech se zaměřujeme na infekce jednotlivých orgánových soustav. Jsou ale také infekce, které se k žádné orgánové soustavě přímo přiřadit nedají, protože postihují celý organismus. Zde vybíráme alespoň dvě nejzávažnější: infekční žloutenky (přestože primární je zánět jater – hepatitida, jde vždy o komplexní postižení celého těla) a infekce způsobené virem lidského imunodeficitu, tedy HIV.

8.2.1 Infekční hepatitidy

Viry infekčních žloutenek nejsou navzájem příbuzné. Viry se označují jako H_?V (? = A, B, C, D, E), žloutenky jako VH_? (virová hepatitida ?).

8.2.1.1 Význam, rozdíly a přenos

Všechny viry žloutenek vyvolávají žloutenku čili hepatitidu (zánět jater). Nemoc začíná po inkubační době (různě dlouhé, u VHA 2–7 týdnů, u VHB 2–6 měsíců) většinou nespecificky, později začíná žloutenka (nejprve na bělímě oka), bolesti, trávicí obtíže apod. Pacienti si také všimnou tmavé moče. Někdy, zejména u VHD, může být průběh fulminantní (= velmi rychlý). U některých hepatitid se objevuje různá forma chronicity (od přetrvávání bezpříznakové infekce až po trvalé potíže). Závažnou komplikací chronické hepatitidy může být také jaterní karcinom, který vzniká především u pacientů postižených hepatitidou typu B. Fekálně-orálně přenášené hepatitidy („samohláskové“ A a E) do chronicity nepřecházejí.

8.2.1.2 Nejdůležitější hepatitidy:

Typ	Nukleová kyselina	Čeď – není předmětem zkoušky	Přenos (převažující)	Možnost přechodu do chronicity
VHA	RNA	<i>Enteroviridae</i>	Fekálně-orální	Ne
VHB	DNA	<i>Hepadnaviridae</i>	Sexuální, krev	Ano
VHC	RNA	<i>Flaviviridae</i>	Krev, snad sexuální	Ano
VHD	RNA	<i>viroid</i>	jako B	Ano
VHE	RNA	<i>Caliciviridae</i>	Fekálně-orální	Asi ne

- **K přenosu hepatitid A, E:** poslední větší epidemie VHA proběhla v 70. letech. Nakaženy byly polské jahody, hnojené lidskými fekáliemi. Nyní se VHA vyskytuje mezi obyvateli s malým hygienickým povědomím. VHA i VHE si také Češi a Moravané přivážejí z ciziny.
- **K přenosu hepatitidy B (a s ní i D):** dříve typická profesionální infekce zdravotníků, nyní díky očkování mnohem méně častá, proto relativně je teď větší podíl sexuálně přenesených žloutenek. Významný je také podíl narkomanů, velké riziko představují jehly pohozené narkomany na ulicích a v parcích, jejichž prostřednictvím se mohou nakazit při hře dětí.
- **Přenos hepatitidy C** je především krví – narkomani apod. Není jasné, jak se přenášíela v době, kdy žádní narkomani nebyli. Snad je možný i pohlavní přenos, ale není to jasné.

8.2.1.2 Diagnostika hepatitid

V diagnostice hepatitid se používají zejména různé metody průkazu **antigenu** a **protilátek**, v posledních desetiletích doplněné o **průkaz nukleové kyseliny**. Je nutno vždy kombinovat mikrobiologické metody s **biochemickými** a s **klinickým hodnocením pacienta**.

8.2.1.3 Léčba, profylaxe, prevence

V léčbě se používají hepatoprotektiva, tedy látky chránící játra. Dříve se používalo také podání antiséra (léčebná pasivní imunizace), ale upouští se od ní. VHB se kromě toho léčí interferonem. V prevenci se používá očkování proti VHA (inaktivovaná) a VHB (používá se často rekombinantní očkovač látka, tj. geneticky připravená vakcína). V současné době je v Česku zařazeno očkování proti VHB do pravidelného očkovacího kalendáře. Očkování proti VHA je doporučováno zejména při výjezdech do zahraničí (včetně Středomoří). Existuje i kombinovaná očkovač látka proti hepatitidám A a B.

8.2.2 Infekce působené virem HIV

Virus HIV je velmi málo odolný. Může být přenesen pouze krví, pohlavně a z matky na dítě. Riziko přenosu klesá v pořadí anální styk – vaginální styk – orální styk, což ale neznamená, že by i ten posledně jmenovaný nebyl rizikový, a to zejména pro příjemce spermatu či vaginálních sekretů. U análního styku riziko zvyšuje množství drobných poranění na sliznici konečníku (konečník je méně pružný).

8.2.2.1 Význam

AIDS (Acquired ImmunoDeficiency Syndrome) je vrcholným stádiem infekce HIV. Infekce však začíná nespecifickými "chřipkovými" příznaky. Pak začne období latence, trvající měsíce až mnoho let. Po této době se začnou objevovat jednotlivá specifická stádia:

- **PGL** (perzistentní generalizovaná lymfadenopatie – zvětšené uzliny, únava, pocení, teploty)
- **ARC** (AIDS-Related Complex – příznaky podobné AIDS, ale méně vyjádřené)
- **Vlastní AIDS.**

8.2.2.2 Diagnostika

Provádí se průkaz protilátek a průkaz pomocí PCR. Pozitivní případy se ověřují v Národní referenční laboratoři v Praze.

8.2.2.3 Léčba a prevence

I když AIDS nelze vyléčit, lze ho léčit. Vedle symptomatické léčby a terapie oportunních infekcí se dnes používá řada antivirotik. Stále však platí důraz na prevenci: dodržování bezpečnosti práce ve zdravotnictví, prevence užívání nitrozilních drog, tzv. "bezpečnější sex" apod. Při vši osvětě je nutno brát v úvahu, že i HIV pozitivní člověk zůstává člověkem a neměl by stát mimo společnost.

8.3 Infekce nervového systému

8.3.1 Význam infekcí CNS obecně

Jsou sice poměrně vzácné, ale mohou mít závažný průběh.

8.3.2 Jak se infekce dostanou do CNS

- **krví** (meningokoky)
- **přímým prostupem tkáněmi** (pneumokoky nebo hemofily ze středního ucha)
- **podél nervů** (virus prostého oparu, virus vztekliny)
- **přímo po poranění** (pneumokoky, stafylokoky, nokardie, aspergily)

8.3.3 Rozdělení infekcí CNS

- **Akutní meningitidy** (záněty mozkových plen) **bakteriální**
- **Akutní meningitidy** (záněty mozkových plen) **virové**

- **Chronické meningitidy** – méně časté, např. tuberkulóza
- **Encefalitidy** (záněty mozkové tkáně jako takové) - zpravidla virové
- **Akutní mozkové abscesy** (velmi vzácné, ale závažné)
- **Chronické mozkové abscesy**

8.3.4 Odlišení purulentní (hnisavé, bakteriální) meningitidy od virové

V diagnostice je potřeba rozlišit bakteriální, hnisavý zánět mozku od virového. U prvního má smysl podávat antibiotika, u druhého ne. Bakteriální záněty také mívají rychlejší průběh.

8.3.5 Typičtí původci bakteriálních infekcí CNS

8.3.5.1 Akutní meningitidy (záněty mozkových blan/plen)

Mezi typické původce patří

Streptococcus agalactiae – u novorozenců

Haemophilus influenzae – dříve u batolat a předškoláků (dnes méně díky očkování)

Neisseria meningitidis (meningokok) – u batolat, předškoláků i teenagerů a mladých dospělých

Streptococcus pneumoniae (pneumokok) – nejvíc u seniorů

8.3.5.2 Chronické meningitidy

Chronické meningitidy jsou mnohem vzácnější než akutní. Může je způsobovat *Mycobacterium tuberculosis* a některé houby, hlavně aspergily a *Cryptococcus neoformans*.

8.3.5.3 Mozkové abscesy

Na rozdíl od předchozích jsou to **opouzdřené** hnisavé procesy v mozku. Uplatňuje se u akutních *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes*, u chronických pak *Mycobacterium tuberculosis*, nokardie, houby a někteří paraziti.

8.3.6 Diagnostika bakteriálních infekcí CNS

Kromě mikrobiologie se vyšetřuje také biochemicky a likvorologicky. Mikrobiologicky se vyšetřuje zpravidla **mozkomíšní mok**, i když lze zaslat pro srovnání i krev na hemokulturu, popř. výtěr z krku. Mozkomíšní mok se ihned po přijetí mikrobiologickou laboratoří **mikroskopuje**, a u vážných podezření na infekci CNS se provádí **přímý průkaz antigenu**. Výsledky mohou být hotové během několika desítek minut. Samozřejmě se provede i **kultivační** diagnostika – ta je ale často hotová příliš pozdě, léčbu je nutno zahájit dřív, než je hotový výsledek.

8.3.7 Léčba a prevence bakteriálních infekcí CNS

8.3.7.1 Léčba

V první řadě je vždy třeba zajistit **základní funkce** pacienta, zejména u fulminantně probíhajících stavů (meningokokové meningitidy).

Teprve pak přicházejí na řadu **antibiotika**, nejlépe podle předpokládané citlivosti a zároveň ovšem tak, aby byl zajištěn dobrý průnik do mozkomíšního moku. Používá se ceftriaxon, ampicilin, a stále i chloramfenikol

8.3.7.2 Prevence a profylaxe

Celá populace dětí se dnes preventivně očkuje proti **hemofilové** infekci.

U **meningokoků** se očkuje až při výskytu potvrzené nákazy takovým meningokokem, který lze očkováním postihnout. Zatímco proti séro skupinám A a C očkování působí, proti sero skupině B bohužel ne.

8.3.8 Virové infekce CNS

8.3.8.1 Původci

Nejčastější původci tzv. aseptických meningitid (zánětů mozkových blan bez hnisu):

- virus klíšťové encefalitidy
- celé řada dalších virů

- vzácně způsobují podobné příznaky i **některé bakterie**: leptospiry, borrelie (viz dále), *Mycobacterium tuberculosis*

Nejčastější původci encefalitid (zánětů mozku):

- virus klíšťové encefalidity
- virus prostého oparu
- enteroviry
- virus příušnic

8.3.8.2 Diagnostika

Přímý průkaz: Mozkomíšni mok se vyšetřuje klasicky kultivací na tkáňových kulturách, případně metodou PCR.

Nepřímý průkaz: Odebere se první vzorek (hned) a druhý (za dva až tři týdny). Sledují se titry protilátek proti neurovirům a jejich změny. Je ale potřeba počítat i se zkříženými reakcemi

8.3.8.3 Léčba a prevence

Léčba je většinou jen symptomatická, tj. léčí se příznaky. Zato je u některých virových neuroinfekcí možná specifická prevence. Zejména je to očkování proti klíšťové encefalidě.

8.3.9 Borreliové neuroinfekce

Borrelia burgdorferi sensu lato je bakterie spirálovitého tvaru (spirocheta). Pokud způsobuje infekce CNS, je charakter infekcí blízký spíše virovým infekcím než bakteriálním. (Proto také borreliové neuroinfekce tvoří společnou otázku s virovými.)

8.3.9.1 Význam a rozdělení

Borrelia burgdorferi sensu lato je druh „v širším slova smyslu“ (to je vyjádřeno tím „sensu lato“) . Zahrnuje několik klíšťaty přenášených druhů, způsobující lymeskou nemoc. Nejdůležitější jsou *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (= v užším slova smyslu), *B. garinii* a *B. afzelii*. U nás se vyskytuje hlavně druhá a třetí z nich; jejich příznaky bývají nervové. Nemoc má tři stádia, od nespecifických ke specifickým. Klasickým příznakem jsou stěhovavé červené skvrny (**erythema migrans**).

8.3.9.2 Diagnostika

Z přímých metod se používá PCR. Častější je průkaz protilátek metodami **ELISA** a **Western blotting**.

8.3.9.3 Léčba

Zde je rozdíl oproti virovým neuroinfekcím: dají se používat antibiotika, nejčastěji penicilin, amoxicilin, ceftriaxon či tetracyklinová antibiotika.

8.4 Infekce ran

8.4.1 Původci ranných infekcí

Zastoupení jednotlivých původců ranných infekcí se liší dle místa a povahy poranění:

- **Běžné povrchové zranění** – příčinou bývá především *Staphylococcus aureus*, méně často beta-hemolytické streptokoky (zejména *Streptococcus pyogenes*, streptokoky skupin G, F, C i jiné).
- **Těžké (např. dopravní) úrazy se zhmožděním, u válečných poranění** – hrozí klostridiové anaerobní infekce (*Clostridium perfringens* aj.). Naopak **tetanus** může vzniknout i drobnějším znečištěným poraněním (typicky bodným, např. vidlemi)
- **Operační rány** – *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* a řada dalších, včetně nozokomiálních patogenů
- **Popáleniny** často infikuje *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* aj.

Zvláštní případ jsou zranění získaná **ve vodě** (sladké či slané), **v tropech**, **pokousání** zvířetem či člověkem apod., kde jsou specifičtí původci

8.4.2 Odběr vzorků z ran

8.4.2.1 Výtěr z rány

Používá se často, tekutý hnis je ale lepší vzorek. Když už se stěr z rány provádí, musí být odebrán **z hlubších vrstev na okraji rány** a zanořen do **transportní půdy**, většinou Amiesovy. Může být užitečné poslat kromě stěru v transportní půdě ještě **sklíčko s nátěrem**.

8.4.2.2 Tekutý hnis

Odebíráme hnis (nebo hnisavý sekret) injekční stříkačkou jako tekutinu. Hnis posíláme ve sterilní zkumavce, ale zvlášť u podezření na anaeroby je lépe nechat hnis ve stříkačce. Ze stříkačky se předpisovým způsobem odstraní jehla, odstříkne se vzduch a stříkačka se zakryje speciálním uzávěrem.

8.4.2.3 Otisk

Otisky se provádějí u povrchových ran (dekubity, diabetické vředy apod.), laboratoř dodá misku s krevním agarem a sterilním čtverečkem velikosti 5 × 5 cm. Čtvereček se přenesení do rány, nechá zde asi minutu a poté se vrátí zpět na agar. Při použití této metody lze získat lepší informace o počtech mikrobů než při stěru. V laboratoři se čtvereček přenesení i na další půdy.

8.4.3 Vlastní laboratorní vyšetření

8.4.3.1 Vyšetření hnisu

Hnis se zhodnotí **makroskopicky** (vzhled, zápach aj.), zhotoví se **mikroskopický preparát** a očkuje se na standardní sestavu **bakteriologických půd**. Podle potřeby se kultivuje i anaerobně.

8.4.3.2 Vyšetření stěrů a otisků z ran

Vyšetřuje se podobně, ale zpravidla bez mikroskopie.

8.5 Infekce kostí, kloubů a svalů.

8.5.1 Záněty kostní dřeně – osteomyelitidy

8.5.1.1 Akutní osteomyelitis

Původcem je v 90 % případů *Staphylococcus aureus*, asi v 5 % *Streptococcus pyogenes*.

K vyšetření u akutní osteomyelitidy je třeba zaslat hnis z místa postižení a krev na hemokulturu.

Léčba se zahajuje podle výsledků Gramova barvení nebo až podle kultivace.

8.5.1.2 Chronická osteomyelitis

se obvykle projevuje píštělí, kterou odtéká sekret z chorobného ložiska. Původci jsou podobní jako u akutní, navíc může být např. tuberkulózního původu.

8.5.2 Záněty kloubů – artritidy

Hnisavé (septické) artritidy **dospělých** vyvolává nejčastěji *Staphylococcus aureus*. U dětí se častěji vyskytují i jiné bakterie. Zajímavostí je izolovaný zánět jednoho velkého (často kolenního) kloubu, který je komplikací **kapavky**.

Jiná situace je u pacientů s „umělými klouby“ a jinými umělými materiály v kloubu. Tady nacházíme hlavně koagulázanegativní i zlaté stafylokoky a jiné mikroby, které pocházejí z kůže a které mají schopnost tvořit biofilm na plastovém povrchu.

Nehnisavé artritidy jsou běžné během mnoha virových infekcí a v rekonvalescenci po nich (parainfekční a postinfekční artritidy), ale i po očkování.

V diagnostice septických artritid se používá kloubní punkčat a hemokultura.

8.5.3 Záněty svalů – myositidy

Svalové bolesti (myalgie) při chřipce a jiných virózách jsou spíše než přímým vlivem viru vyvolány zvýšeným katabolismem svalových bílkovin.

8.5.3.1 Bakteriální infekce svalů

jsou poměrně vzácné. Nejzávažnější jsou **klostridiové myonekrózy** (myo- = svalový, nekróza = odumřtí tkáně), ve válce nebo při živelni. Nejznámější je plynatá sněť. Vyvolává ji *Clostridium perfringens* a některá další klostridia. Dramaticky může probíhat i myositida, případně nekrotizující fasciitida (zánět svalového obalu) vyvolaná invazivním **kmenem *Streptococcus pyogenes*** (novináři s oblibou nazývaným „masožravý streptokok“). Jde o kmen bakterie, který je sám napaden virem (bakteriofágem).

Chirurgické řešení je nezbytné, antibiotika nestačí.

8.5.3.2 Parazitární infekce svalů

Generalizovaná, těžká (i smrtelná) myositida může být vyvolána masivní infestací **svalovce stočeného** – *Trichinella spiralis*.

8.6 Anaerobní infekce – původci, transport materiálu, zásady diagnostiky

Striktní anaeroby nesnášejí kyslík (některé hynou i v přítomnosti jeho velmi nízkých koncentrací). Infekce jimi způsobené mají oproti jiným poněkud odlišné charakteristiky z hlediska vzniku, průběhu i léčby. Proto jsou probrány zvlášť.

Nesporulující anaeroby se mezi lidmi přenášejí zřídka, většina infekcí je endogenních. Z míst, kde se anaeroby přirozeně nacházejí (tj. ústa, střevo a pochva), se mohou dostat do sousedních tkání, anebo krví do celého těla.

Naproti tomu **sporulující anaeroby** – klostridia – se díky sporám mohou šířit mnohem snáz.

8.6.1 Nesporulující anaeroby

8.6.1.1 Rozdělení a význam nesporulujících anaerobů

Infekce způsobené nesporulujícími anaeroby jsou téměř vždy smíšené, účastní se **mnoho různých druhů anaerobů, případně i ve směsi s fakultativními anaeroby**. Nejčastěji jsou postiženy tkáně, které leží v okolí orgánů, kde se anaeroby vyskytují fyziologicky. Z dutiny ústní se mohou anaeroby např. při zubním kazu, úrazu apod. dostat do měkkých tkání v okolí čelisti či krku. Střevní anaeroby při perforaci způsobují peritonitidu, poševní pak záněty malé pánve.

8.6.1.2 Laktobacily

Laktobacily ve skutečnosti nejsou anaerobní bakterie, ale tzv. mikroaerofilní. Obecně se však dá říci, že je nacházíme daleko spíše při anaerobní kultivaci než při kultivaci aerobní. Jejich patogenita je velmi nízká, naopak se podílejí na udržení normálních poměrů jak ve střevě, tak také v pochvě (*Lactobacillus acidophilus* – Döderleinův bacil).

8.6.1.3 Diagnostika nesporulujících anaerobů

Mikroskopie je velice užitečná – mnohé anaeroby jsou různotvaré. **Kultivace:** anaerobní kultivace, viz 10.7.3. Využívá se **biochemická identifikace**.

8.6.1.4 Léčba infekcí způsobovaných nesporulujícími anaeroby

Používá se hlavně klindamycin, penicilin (jde-li o citlivý druh) nebo metronidazol.

8.6.2 Rod *Clostridium*

Oproti ostatním, nesporulujícím anaerobům je u rodu *Clostridium* jeden zásadní rozdíl: ve formě spor vydrží nejen na kyslíku, ale dokonce i v hodně extrémních podmínkách. Proto se klostridia přenášejí nejen v rámci organismu. Při práci v zemi, při úrazech znečištěných zeminou apod. se mohou spory dostat do těla.

Přehled klostridií a jejich význam byl zmíněn v kapitole 2. Zmíněny byly také v kapitole 8.6.

8.6.3 Anaerobní kultivace

Pro kultivaci **striktně aerobních** (= pouze v kyslíkovém prostředí rostoucích) a **fakultativně anaerobních** (= na kyslíku nezávislých) baktérií není potřeba vytvářet zvláštní podmínky. Zato

striktně anaerobním baktériím musíme vytvořit speciální bezkyslíkové podmínky, chceme-li je pěstova. K získání anaerobního prostředí se používá

Anaerostat – nádoba, která má těsně přiléhavé víko. (anaerobní prostředí vzniká chemicky).

Anaerobní box – modernější způsob kultivace, je to **velká prosklená bedna**, do které je anaerobní směs vháněna z bomby

Přelítí parafinem – používá se u tekutých půd

8.6.3.1 Odběr a transport materiálu na anaerobní kultivaci

Musí být také speciální. Pokud nemáme k dispozici speciální zkumavky, kde je vzduch nahrazen oxidem uhličitým, zasíláme materiál (např. hnis) přímo ve stříkačce s jehlou s uzávěrem. U výtěrů naproti tomu stačí běžná souprava s Amiesovou půdou. Ovšem tekutý materiál je vždy cennější pro diagnostiku než pouhý výtěr.

Téma 9 Infekce respirační, střevní a močové

9.1 Respirační infekce

Respirační infekce jsou vůbec nejčastější infekcí a také příčinou, proč lidé navštěvují lékaře.

9.1.1 Normální mikrobiální situace v dýchacích cestách

Uvedme alespoň krátký přehled:

- **Nosní dutina** – kožní mikroflóra (koaguláza-negativní stafylokoky, možné je i malé množství zlatých stafylokoků, dále nepatogenní korynebakterie a kvasinky)
- **Hltan** – vždy osídlen nepatogenními neisseriemi a ústními streptokoky, velmi často je přítomen i *Haemophilus parainfluenzae* a další bakterie, mnohé se nedají pěstovat
- **Hrtan** – podobně jako v hltanu, ale menší množství bakterií
- **Dolní cesty dýchací a plíce** – mikroby za normálních okolností (téměř) nejsou přítomny

9.1.2 Infekce nosu a nosohltanu

9.1.2.1 Charakteristika infekce nosu a nosohltanu

Rhinitis (zánět nosní dutiny) a **nasopharyngitis (zánět nosohltanu)** bývají součástí běžného nachlazení (common cold) a projevují se především rýmou (coryza) a bolestí v krku. Prvotním původcem bývají **rhinoviry** a ostatní respirační viry. Součástí normálního průběhu virové rýmy je **přechodná přítomnost bakterií**, často pocházejících z běžné flóry pacienta.

9.1.2.2 Diagnostika infekcí nosu a nosohltanu

Bakteriologické vyšetření má význam pouze u vzácných komplikací, protože běžná rýma se léčí jen symptomaticky (kapky k uvolnění otoku sliznice).

9.1.3 Infekce ústní části hltanu včetně krčních mandlí

9.1.3.1 Charakteristika infekcí hltanu a mandlí

Také většina akutních **tonsilitid a faryngitid** je virového původu (zejména se uplatňují adenoviry). Tonsilitidou se ovšem může také projevovat infekční mononukleóza, způsobená EB virem. U infekcí mandlí (**tonsilitid**) je důležité je vzhledem k možným pozdním následkům rozpoznat „klasickou angínu“ – **akutní bakteriální tonsilitidu** vyvolanou *Streptococcus pyogenes*.

9.1.3.2 Diagnostika infekcí hltanu a mandlí

Ani zkušený diagnostik nemusí rozeznat bakteriální infekci od virové. Proto se dnes doporučuje **vždy provést kultivační vyšetření výtěru z krku, a pro předběžnou diagnózu vyšetření zánětlivých markerů (CRP, prokalcitonin)**.

9.1.3.3 Léčba infekcí hltanu a mandlí

Lékem volby u angíny vyvolaných *S. pyogenes* zůstává **penicilin**.

9.1.4 Infekce přínosních (paranasálních) dutin (sinusitis)

9.1.4.1 Charakteristika infekcí dutin

Běžná zánětlivá reakce v dutinách při rýmě se nepovažuje za skutečnou sinusitidu. Skutečná sinusitida (zánět dutin) je velmi bolestivá. **Původci** jsou zpravidla *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* a další

9.1.4.2 Diagnostika infekcí přínosních dutin

U sinusitid má smysl vyšetřovat jen **výplach z dutiny**. Z nálezů ve výtěru z nosu nebo nosohltanu nelze usuzovat na původce sinusitidy. Pokud nemáme k dispozici relevantní vzorek, je **menší chyba léčit naslepo amoxicilinem než léčit „cíleně“ podle výsledku výtěru z nosu**.

9.1.4.3 Léčba infekcí středního ucha a přínosných dutin

Používá se zejména **amoxicilin**.

9.1.5 Infekce středního ucha (otitis media)

Střední ucho je součástí smyslového aparátu. Protože ale anatomicky souvisí s respiračními cestami, má smysl probrat jeho infekce na tomto místě.

9.1.5.1 Charakteristika infekcí středního ucha

Akutní bakteriální zánět středního ucha (otitis media) bývá způsoben *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*, méně často *Branhamella (Moraxella) catarrhalis* a další. Komplikací zánětu středního ucha je zánět výběžku bradavčitého (*mastoiditis*) a především hnisavý zánět mozkových plen (*meningitis purulenta*).

U **chronické** otitidy se uplatňuje kolonizace gramnegativními nefermentujícími bakteriemi či enterobakteriemi (zejména v nemocničním prostředí, kdy může jít o nozokomiální infekci).

9.1.5.2 Diagnostika infekcí středního ucha

Odebírá se **sekret ze středouší po paracentéze nebo spontánní perforaci**. Sekret se kultivuje běžným způsobem. Stejně jako u sinusitid platí, že **nemá smysl vyšetřovat vzorek, který není relevantní**. Výtěr ze zevního zvukovodu má smysl pouze v případě perforovaného bubínku, kdy lze i ve zvukovodu předpokládat přítomnost bakterií ze středního ucha.

9.1.5.3 Léčba infekcí středního ucha

Stejně jako u sinusitid se i zde používají aminopeniciliny, zejména **amoxicilin**

9.1.5.4 Záněty zevního zvukovodu

Zánět zevního zvukovodu (*otitis externa*) bývá způsoben *Staphylococcus aureus*. Strategie léčby a vyšetřování je prakticky shodná s ostatními infekcemi na kůži.

9.1.6 Infekce příklopky hrtanové (epiglottitis)

Haemophilus influenzae typ b vyvolává izolovanou epiglottitidu. Je velmi vzácná.

9.1.7 Infekce laryngu a trachey (laryngitis, tracheitis)

Při zánětu hrtanu jsou postiženy hlasivky, což se projevuje chrapotem. Nejdůležitějšími původci jsou **viry**. **Bakteriologické** vyšetření laryngitid je nezbytné při jen podezření na záškrt.

9.1.8 Infekce bronchů (průdušek) a bronchiolů (průdušinek)

9.1.8.1 Charakteristika infekcí bronchů

Většina bronchitid, zvláště u dětí, je virového původu. Speciálním případem je **dávivý (černý) kašel**, který způsobuje *Bordetella pertussis*, případně *Bordetella parapertussis*.

9.1.8.2 Diagnostika infekcí bronchů

Zpravidla není nutno vyšetřovat. Výjimkou může být akutní zhoršení chronické bronchitidy.

9.1.8.3 Léčba infekcí bronchů

V případě akutního zhoršení chronické bronchitidy se léčí podle citlivosti nalezené bakterie.

9.1.8.4 Bronchiolitidy (záněty průdušinek)

Vyskytují se téměř výhradně u kojenců.

9.1.9.2 Pertusoidní syndrom

Jde o zvláštní stav s příznaky **černého kašle**. Protože postupně postihuje různé části dýchacích cest, je obtížné ho zařadit. Klasickým původcem je *Bordetella pertussis*, případně *Bordetella parapertussis*.

9.1.10 Infekce plic

9.1.8.1 Charakteristika infekcí plic

Akutní zánět plic získaný „v terénu“ (tedy ne jako nemocniční infekce) vyvolává nejčastěji *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* případně *Branhamella catarrhalis*. Zlaté stafylokoky jen vzácně (jako komplikace chřipky). U novorozenců hrozí *Streptococcus agalactiae*. Na nemocničních infekcích se podílejí různé bakterie z nemocničního prostředí.

Atypické pneumonie na rozdíl od klasického zánětu plic nenapadají bronchy a plicní sklípky, ale spíše mezibuněčný prostor plicních buněk. Kromě virů (virus chřipky A a B a u dětí ještě další respirační viry, zejména RS-virus) je působil nejčastěji *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae* a *Legionella pneumophilla*.

9.1.8.2 Diagnostika infekcí plic

Při podezření na zánět plic se běžně vyšetřuje **sputum**. V případě požadavku vyšetření **na tuberkulózu** je ale potřeba poslat sputum zvlášť a označit. Výtěr z krku místo sputa nemá téměř smysl. Dalším vhodným vzorkem může být **krev na hemokulturu**.

Serologický průkaz se provádí v případě podezření na původce „atypických“ pneumonií.

9.1.8.3 Léčba infekcí plic

Liší se podle typu a etiologie. Zcela obecně platí, že akutní bronchopneumonie lze empiricky léčit **aminopeniciliny**, příp. i potencovanými klavulanátem nebo sulbaktamem. U atypických pneumonií jsou lékem **volby tetracykliny, příp. makrolidy II. generace** nebo fluorochinolony.

9.2 Infekce trávicího traktu

9.2.1 Význam infekcí gastrointestinálního traktu

- Celosvětově patří k **nejběžnějším infekcím**
- **Mohou probíhat epidemicky** (zejména při kontaminované potravě)

9.2.2 Normální mikrobiální osídlení gastrointestinálního traktu

Pro diagnostiku infekce GIT je nutno znát normální situaci v tomto traktu.

- **Rty** – přechod kožní a ústní mikroflóry
- **Dutina ústní** – podobně jako v hltanu
- **Tenké a zejména tlusté střevo** – anaerobní bakterie; enterobakterie (zejména, ale nejen *Escherichia coli*), enterokoky aj.
- **Řiť** – přechod střevní a kožní mikroflóry

9.2.3 Nejčastější příznaky infekcí gastrointestinálního traktu

- **Průjem** – akutní, chronický, s přítomností krve, hlenů, tenesmy (bolestivé nutkání)
- **Nechutenství**, dyspepsie různého stupně
- **Zvracení** – s příměsí krve či bez něj, s hleny apod.
- **Bolesti břicha** – lokalizované do různých míst

Všechny tyto příznaky však mohou mít i neinfekční příčiny!

9.2.4 Infekce počátečních částí trávicího traktu

9.2.4.1 Dutina ústní

Problematika dutiny ústní bude probrána ve zvláštních kapitolách.

9.2.4.2 Infekce jícnu

O infekcích **hltanu** byla řeč v kapitole o respiračních infekcích.

Infekce **jícnu** jsou vzácné.

9.2.5 Mikrobiální choroby žaludku

9.2.5.1 Charakteristika přítomnosti mikrobů žaludku

Helicobacter pylori, která si umí poradit s kyselostí žaludečního prostředí. Příčinou schopnosti přežít je výrazná ureázová aktivita. Helikobakter není klasickým původcem infekce.

Onemocnění je multifaktoriální. Může jít o **chronickou gastritidu** nebo **vředové onemocnění žaludku a dvanáctníku**.

9.2.5.2 Diagnostika infekce žaludku

Odebírá se zpravidla biopsie žaludeční sliznice.

9.2.5.3 Léčba gastrických vředů

Léčba musí zahrnovat jak potlačení helikobakterů, tak u potlačení dalších faktorů.

9.2.6 Infekce a bakteriální toxikózy střeva

9.2.6.1 Rozdíl mezi střevní infekcí a bakteriální enterotoxikózou

Infekční průjem: Pacient pozře infekční dávku živých mikrobů. V těle pacienta se množí mikroby, po inkubační době zpravidla 1–10 dnů nastávají klinické potíže.

Otrava z potravin: Je pozřen mikroem vytvořený toxin, který po několika desítkách minut až nanejvýš hodinách začíná působit.

9.2.6.2 Bakteriální průjmy způsobené obligátními patogeny

Významné jsou **salmonely** – druh *Salmonella enterica*. Na rozdíl od salmonelózy se **kampylobakteriáza** způsobená bakterií *Campylobacter jejuni* přenáší spíše drůbežím masem. Významné jsou i infekce způsobené **yersiniemi** a bacilární úplavice způsobené **shigelami**.

9.2.6.3 Bakteriální průjmy způsobené podmíněnými patogeny

Zde může jít o narušení střevního ekosystému, ale také o situaci, kdy virulentní kmen ve střevě nahradí kmeny málo virulentní. To je případ ***Escherichia coli***.

9.2.6.4 Léčba bakteriálních průjmů.

Až na naprosté výjimky se nepodávají antibiotika. V **akutní fázi** se tedy doporučuje pouze aktivní uhlí (k adsorpci případných toxinů) a popř. střevní desinficiencia (Endiaron). Nevhodné jsou léky tlumící peristaltiku (Reasec), protože se tím vyřazuje z provozu průjem jako přirozený mechanismus, kterým tělo odstraňuje škodlivé látky. V **rekonvalescentní fázi** je vhodné obnovení střevní mikroflóry bakteriálními kulturami či substráty pro ně vhodnými (kyselé zelí, živé jogurty apod).

9.2.6.5 Virové průjmy

Téměř polovina průjmů má virový původ.

9.2.6.7 Parazitární průjmy

U nás jsou relativně vzácné, zato v tropech velmi časté. ***Giardia lamblia*** postihuje zejména děti.

V subtropích působí průjmy měňavka ***Entamoeba histolytica***.

9.2.6.8 Otravy z potravin

Je možná intoxikace toxinem ***Staphylococcus aureus***. Dalším původcem potravinových otrav je např. ***Bacillus cereus***.

9.2.7.1 Odběry materiálů z horní části gastrointestinálního traktu

9.2.7.1 Biopsie

Používá se výjimečně.

9.2.7.2 Zvratky

Méně častým druhem materiálu jsou.

9.2.7.3 Urea breath test (ureázový dechový test)

Zvláštním případem testu je tzv. **urea breath test**, což je neinvazivní orientační průkaz ureázové aktivity *Helicobacter pylori*, využívaný hlavně u dětí. Pacientovi je perorálně podána radioaktivně značená močovina. Měří se podíl CO₂ se značeným uhlíkem ve vydechovaném vzduchu.

9.2.8.2 Odběry materiálů z dolní části gastrointestinálního traktu

Zpravidla se posílá stolice.

9.2.8.1 Odběr stolice na bakteriologické vyšetření

Až na výjimky se provádí odběr na **tampon**, který je posléze zanořen do **transportní pudy** (většinou **Amiesovy**).

9.2.8.2 Odběr stolice na mykologické vyšetření

Je vhodný opět **tampon**. Lze použít opět Amiesovu pudu, lepší je však tampon zanořený do **transportní pudy FungiQuick**.

9.2.8.3 Odběr stolice na parazitologické vyšetření

Na rozdíl od bakteriologie je nutná **kusová stolice**. Výjimkou je **průkaz vajíček roupů** tzv. Grahamovou metodou. Zde se používá tenké průhledné pružné lepicí pásky, která se přelepí přes perianální řasy pacienta.

9.2.8.4 Odběr stolice na virologické vyšetření

Pro **izolaci viru** je nezbytné zasílat odebranou stolici **v kontejneru uloženém v termosce obsahující sáček s tajícím ledem**. Naopak **jakýkoli kusový vzorek** stolice stačí při použití průkazu antigenu, popř. PCR.

9.2.8.5 Odběr stolice na průkaz toxinu *Clostridium difficile*

K tomuto vyšetření **je nutné zaslání kusové stolice**, výtěr z řitního kanálu v tomto případě nestačí.

9.3 Močové infekce

9.3.1 Význam močových infekcí

Močové infekce patří spolu s respiračními a trávicími mezi nejčastější.

9.3.2 Normální bakteriologická situace v močových cestách

Za normální situace je **moč zdravého člověka prakticky sterilní tekutinou**. U **seniorů** může být situace jiná. Dochází u nich k dlouhodobému osídlení zejména močového měchýře bakteriemi, nejčastěji *Escherichia coli*. Je-li nastolena rovnováha, může takové osídlení seniorovi sloužit jako „běžná mikroflóra“.

9.3.3 Typy močových infekcí

Nejběžnější je **zánět močového měchýře (cystitis)**, vzniká obvykle vzestupnou cestou (z ústí močové trubice). Bývá vyvolána nejčastěji střevní mikroflórou.

Z ostatních typů močových cest jsou nejdůležitější **záněty pánvičky ledvinné (pyelonefritidy)**.

Záněty močové trubice (uretritidy) se obvykle přenášejí.

9.3.4 Klinické projevy a diagnostika infekcí močového systému

K nejobvyklejším **příznakům** signalizujícím pravděpodobnou přítomnost infekce močových cest (IMC) patří časté nucení na močení (polakisurie), provázená nezdídkou pocitem pálení v uretře a přítomností hlenu, hnisu nebo krve v moči. **Bolesti v zádech** jsou většinou znakem **pyelonefritidy**.

9.3.5 Původci infekcí močových cest

Mezi původci močových infekcí jsou významné střevní bakterie.

9.3.5.1 Původci nekomplikovaných, ambulantně léčených močových nákaz

Asi 80 % močových infekcí „komunitního typu“ způsobuje *Escherichia coli*. Dalšími přibližně 10 % enterokoky (hlavně *Enterococcus faecalis*). Zbytek pak jiné bakterie.

9.3.5.2 Původci močových nákaz u hospitalizovaných pacientů:

Escherichia coli se zde podílí „jen“ asi 55 %. *Klebsiella pneumoniae* má větší podíl než u ambulantně léčených, bohužel časté kmeny produkující širokospektré betalaktamázy.

9.3.5.3 Jiní původci močových nákaz než bakterie a houby

Vyskytují se vzácně.

9.3.6 Zásady odběru a transportu moče na bakteriologické vyšetření – indikace vyšetření

U každé močové infekce, kde se uvažuje o antibiotické léčbě, by měla být vyšetřena moč.

9.3.7 Zásady odběru a transportu moče na bakteriologické vyšetření – odběr moče

9.3.7.1 Možné způsoby odběru

- **Suprapubická punkce močového.**
- **Cévkovaná moč.** Ani cévkovaná moč by neměla být zasílána zbytečně.
- **Moč běžně odebraná** je nejběžnějším a v praxi většinou zcela dostačujícím vzorkem.
- **Moč z permanentního katetru** je málo vhodným vzorkem.
- **U novorozenců a kojenců** se používají různé odběrové sáčky.

9.3.7.2 Moč běžně odebraná

- Před vlastním odběrem je nutno (u muže i u ženy) **omýt ústí močové trubice** mýdlovou vodou.
- Před zahájením močení je nutno u ženy **zabránit kontaminaci** z malých stydkých pysků jejich roztažením, u muže zabránit kontaminaci z předkožkového vaku jejím přetažením přes žalud.
- Moč se odebírá vždy bezpodmínečně **do sterilní nádoby**.
- Zpravidla se používá **střední proud moče**. Existují však výjimky.

9.3.8 Zásady odběru a transportu moče na bakteriologické vyšetření – Transport moče

U odběru moče je hlavní problém v tom, že i při veškeré péči zpravidla vzorek obsahuje **malé množství bakterií z ústí uretry**. Proto se kultivace moče, na rozdíl od většiny ostatních materiálů, provádí kvantitativně či semikvantitativně, aby se odlišila velká množství mikrobů (infekce) od malých množství (kontaminace). K tomu je nutno moč dopravit do laboratoře co nejrychleji, maximálně **do dvou hodin od odběru**.

Výjimečně je možné uchovat moč až do transportu při chladničkové teplotě (tj. cca 4 °C).

9.3.9 Co se pak s močí děje v laboratoři

Většinou se moč kultivuje na krevním agaru a jedné další půdě.

9.3.10 Soupravy typu urikult

Existuje odebrat moč do soupravy, která už jednu či dvě kultivační půdy přímo obsahuje. **Půdy se přivedou do kontaktu s močí, ta se hned zase vylije** a do laboratoře se pošlou vlastně takto naočkované půdy. Z různých praktických důvodů se však tato metoda příliš neujala.

9.3.11 Kultivační vyšetření moče

9.3.9.1 Pojem CFU

Pro pochopení následujícího textu je nutno rozumět pojmu CFU. CFU je anglická zkratka – colony forming unit, tedy kolonii tvořící jednotka.

9.3.9.2 Kvantitativní metoda

Při kvantitativním způsobu zpracování se **moč ředí** v poměru 1:10, 1:1000 a 1:10 000. Běžně se nepoužívá

9.3.9.3 Semikvantitativní metoda

Je to metoda s použitím **kalibrovaných mikroklíčků** o objemu 1, popřípadě 10 mikrolitrů. Po důkladném promíchání vzorku se kličkou nabere výše uvedené množství moče a rozočkuje se klasickým způsobem na misku s půdou.

9.3.12 Výsledky kultivačního vyšetření a jejich interpretace

9.3.10.1 Riziko kontaminace při odběru

Moč patří k těm druhů klinického materiálu, které bývají relativně často kontaminovány.

9.3.10.2 Permanentní močové katetry

bývají často **osídleny** různými druhy stafylokoků, gramnegativních nefermentujících bakterií nebo kvasinkami. Tyto mikroby, vykultivované v laboratoři, pak mohou být mylně pokládány za původce uroinfekce, přičemž skutečné etiologické agens unikne pozornosti.

9.3.10.3 Kontaminace při zpracování

Jako u všech ostatních materiálů, nelze ani zapomínat na možnost kontaminace přímo v laboratoři (kontaminace ze vzduchu, kontaminace použitého kultivačního média apod.)

9.3.13 Kritéria hodnocení výsledků kvantitativního či semikvantitativního vyšetření moče

Jeden mikrob, méně než 10^4 CFU v 1 ml	Kontaminace či náhodný nález. U stafylokoků se takto hodnotí i o něco větší množství, naopak u <i>S. agalactiae</i> jsme obezřetní i v případě takto malých počtů mikrobů
Jeden mikrob, množství $10^4 - 10^5$ CFU v 1 ml	Hraniční množství mikrobů. Může jít stále ještě o kontaminaci, ale také již o infekci. Je dobré posoudit, jde-li o ojedinělý či opakovaný nález
Jeden mikrob, množství větší než 10^5 CFU v 1 ml	Zpravidla se považuje za infekci, i když ani zde to nemusí být vždy pravda.
Dva mikroby, množství $10^4 - 10^5$ CFU v 1 ml, nebo tři mikroby bez ohledu na množství	Kontaminace, mikroby se neurčují a nezjišťuje se jejich citlivost na antibiotika
Výjimka z předchozího: jeden mikrob v množství více než 10^5 , jeden nebo dva mikroby naopak v množství nepatrném	„Bere se vážně“ pouze mikrob, kterého je nejvíc

9.3.14 Hodnocení vyšetření moče u starých osob a osob s ABU

U **seniorů** je potřeba počítat s tím, že mohou mít močové cesty **osídleny určitými bakteriemi** (např. *Escherichia coli*) a že v tomto případě nejde o patogena, ale o dlouhodobou kolonizaci. Přítomnost bakterií v moči **bez přítomnosti příznaků** (asymptomatická bakteriurie) je **důvodem k léčbě pouze u těhotných žen**.

Téma 10 Některé další infekce mimo ústní dutinu

10.1 Nákazy pohlavních orgánů a pohlavně přenosné nákazy

10.1.1 Rozdělení nákaz pohlavních orgánů

10.1.1.1 Klasické pohlavní nákazy

Jsou to infekce, u kterých se pohlavní přenos považuje za jediný možný.

10.1.1.2 Ostatní nákazy pohlavních orgánů

Sem patří široká škála infekcí, od těch, u nichž je pohlavní přenos hlavní cestou přenosu a tedy jsou blízké první skupině (např. trichomonóza) až po takové, které sice pohlavní orgány postihují, ale mechanismus přenosu je zpravidla jiný než pohlavní (např. poševní mykózy).

10.1.1.3 Pohlavně přenosné nákazy, nepostihující primárně pohlavní orgány

Jsou to nákazy, u nichž je sexuální přenos jednou z významných cest přenosu, avšak jako takové jsou systémové. Patří sem zejména některé typy virových hepatitid a infekce virem HIV. O obou je pojednáno v jiné kapitole.

10.1.2 Normální osídlení pohlavních orgánů

Za normálních poměrů **nejsou mikroby přítomny**

- u **ženy** v děloze, vejcovodech, vaječnicích
- u **muže** v prostatě, chámovodech, varlatech

Specifickou normální flóru u **ženy** má *vagina* (laktobacily, příměs různých aerobních i anaerobních mikrobů). *Vulva* tvoří přechod vaginální a kožní flóry.

U muže je do jisté míry specifický *předkožkový vak* – vedle kožní flóry jsou tu i např. nepatogenní mykobakteria apod.

10.1.3 Klasické pohlavní nemoci – přehled, odběr materiálu, přehled diagnostiky

Mezi klasické pohlavní choroby se zpravidla řadí pět onemocnění. Jen dvě z nich, totiž kapavka a syfilis, se běžně vyskytují u nás; ostatní jsou typická pro tropické a subtropické oblasti.

Choroba	Původce
Kapavka	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> („gonokok“)
Syfilis (příjice, lues)	<i>Treponema pallidum</i>
Měkký vřed (ulcus molle)	<i>Haemophilus ducreyi</i>
Granuloma inguinale	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>
Lymphogranuloma venereum	<i>Chlamydia trachomatis</i> serotypy L ₁ , L ₂ , L ₃

10.1.4 Kapavka

10.1.4.1 Charakteristika onemocnění

Původcem onemocnění je **gramnegativní diplokok *Neisseria gonorrhoeae* (gonokok)**. Je to blízký příbuzný bakterie *Neisseria meningitidis* (meningokoka).

Klinicky jde zpravidla o **hnisavý zánět urethry a děložního hrdla**. Projevuje se **odkapáváním hnisavého sekretu z močové trubice**.

Léčí se penicilinem a dalšími antibiotiky.

10.1.4.2 Odběr vzorku u kapavky

Pro kulturační vyšetření se zasílá **výtěr na tamponu s Amiesovou** či jinou vhodnou **transportní půdou**. U výtěrů z urethry a cervixu je potřeba zaslat zároveň i **nátěr na sklíčko**.

10.1.4.3 Diagnostika kapavky v laboratoři

Skříčko se barví dle Grama. **Kultivace** se provádí na obohacené (čokoládový agar) a selektivně obohacené (GC agar) půdě na kapavku a trvá 48 až 72 hodin.

10.1.5 Syfilis

10.1.5.1 Charakteristika infekce

Je to ještě závažnější pohlavní nemoc než kapavka. Způsobuje ji spirální bakterie (spirocheta) *Treponema pallidum*. Nazývá se také lues nebo česky příjice. Rozlišuje se **získaná syfilis** – má tři stádia, a **vrozená syfilis**.

Léčba: stále jsou preferovány velké dávky penicilinu.

10.1.5.2 Diagnostika syfilis – přímý průkaz

Přímý průkaz se provádí zřídkka. Jednak je **poměrně pracný**, jednak je zřídkka k dispozici **vhodný materiál** k odběru. Jedině u pacientů, u kterých je právě vytvořen tvrdý vřed, je možno provést z tohoto vředu seškrab. Takový materiál pak může být vyšetřen

- **mikroskopii** v zástinu či speciálními technikami (stříbření, fluorescenční barvení)
- **přímou imunofluorescencí**
- **metodou PCR**

10.1.5.3 Diagnostika syfilis – nepřímý průkaz

Nepřímý (sérologický) průkaz je u syfilis základem diagnostiky, je mnohem důležitější než nepřímý. Odebírá se srážlivá krev běžným způsobem.

V první fázi se provádějí **screeningové reakce** – obvykle dvě:

- **VDRL/RRR/RPR** (takzvané netreponemové reakce – hledají se protilátky proti kardiolipinu)
- **TPHA** (*Treponema pallidum* hemaglutinační test)

10.1.6 Nemoci pohlavních orgánů, které nepatří mezi klasické pohlavní nemoci

10.1.6.1 Onemocnění papilomaviry

Papilomaviry (konkrétně jde o virus HPV – Human Papillomavirus) způsobují útvary na kůži a v genitální oblasti, hlavně na děložním čípku. Je jich mnoho typů. Zpravidla se hovoří o tzv. „**low-risk**“ (nízkorizikových, bradavice způsobujících) a „**high-risk**“ (vysokorizikových, prekancerózy způsobujících) typech. Nejčastější z „high-risk“ kmenů jsou kmeny číslo 16 a 18, proti kterým je dnes již dostupné očkování.

Diagnostika papilomavirózy je obtížná, nové šance nabízejí genetické metody (genové sondy, PCR).

Prekanceróza se **léčí** zákrokem na děložním čípku. Bradavice případně i antivirotickými preparáty. **Prevencí** je očkování.

10.1.6.2 Onemocnění chlamydiemi

Jsou to sice bakterie, ale svými vlastnostmi blízké virům. Na rozdíl od *Chlamydia trachomatis* L₁, L₂ a L₃, které způsobují klasickou pohlavní nemoc v tropech, serotypy D až K jsou běžné ve vyspělých zemích.

Také **diagnostika** chlamydiových infekcí je obtížná, i v tomto případě se prosazují genetické metody. Chlamydiová infekce je **léčitelná** tetracykliny, případně makrolidy.

10.1.6.3 *Trichomonas vaginalis* – bičenka poševní

Je to prvok – bičíkovec, způsobuje poševní výtoky. Přenos je převážně pohlavní, avšak možný i přenos např. ručníkem apod.

Diagnostika: mikrobiální obraz poševní; a/nebo souprava C. A. T. (*Candida* and *Trichomonas*), která umožňuje zároveň diagnostiku kvasinkové infekce.

Léčba: metronidazol, působí kromě trichomonád i na poševní anaeroby

10.1.6.4 Poševní mykózy

Představují houbové (kvasinkové) onemocnění pochvy. Pohlavní přenos je u nich relativně málo významný. Infekce se do pochvy dostává náhodnou manipulací nebo ze střevního rezervoáru. Pro **diagnostiku** je vhodná souprava C. A. T. Nejvýznamnější je *Candida albicans*.

10.1.6.5 Hnisavé bakteriální záněty pochvy

Klasické bakteriální záněty pochvy se označují **aerobní vaginitidy (AV)**. Na rozdíl od vaginóz mají charakter klasického zánětu, tj. je přítomen hnisavý výtok, mikroskopicky leukocyty. **Diagnostika** se provádí kultivací. Nejčastěji nalézáme enterobakterie, enterokoky, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*. **Léčba** má smysl jen při přítomnosti příznaků zánětu.

10.1.6.6 Bakteriální vaginózy

Bakteriální vaginóza (používá se i zkratka BV) je stav, kdy normální flóra poševní je narušena a v pochvě se nacházejí jiné bakterie, zejména rody *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus mullieris* („poševní vibrio“), *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* a anaerobní bakterie. Není tu jeden jednoznačný původce. Nachází se jen málo leukocytů.

Při **diagnostice** je velmi užitečná mikroskopie. Antibiotická **léčba** (metronidazolem) je možná, ale důležitější je obvykle obnovení normální mikroflóry.

10.1.6.7 Další pohlavně přenosné nákazy

Při pohlavním kontaktu se mohou přenášet také **herpesviróvá onemocnění**. Zvláštním případem je přenos některých **ektoparazitů**, především jde o veš muňku (*Phthirus pubis*, „filčka“). Jak již bylo řečeno, pohlavní přenos je jednou z cest přenosu u některých **systémových onemocnění**: týká se to zejména hepatitid (B, pravděpodobně i C) a viru HIV.

10.1.7 Diagnostika infekcí pohlavního systému

10.1.7.1 Přehled odběrových možností a diagnostických metod

Obecná pravidla odběru z pohlavních orgánů. Při odběru je nutno vyvarovat se kontaminace a odebrat výtěr z požadované.

Amiesova půda se používá ke kultivaci bakterií včetně gardnerel, mykoplasmat a anaerobů.

Transportně kultivační souprava C. A. T.

Suché tampony se používají v případě přímého průkazu antigenu, genových sond, PCR a podobně, zejména tedy u chlamydií a papilomavirů.

Nátěry na sklíčko se v poslední době začínají znovu prosazovat.

10.1.7.2 MOP – mikrobiální obraz poševní

U klasického vyšetření MOP se posílají dvě sklíčka. Jedno se obarví dle Grama, druhé dle Giemsy (hlavně kvůli trichomonádám).

10.2 Nemoci projevující se na kůži a jejich diagnostika.

10.2.1 Normální osídlení kůže

Kůže je normálně osídlena směsí koaguláza negativních stafylokoků a nepatogenních korynebakterií, ale za normální tu lze považovat i malé množství zlatých stafylokoků, kvasinek aj.

10.2.2 Přehled onemocnění s kožními projevy

10.2.2.1 Celková mikrobiální onemocnění projevující se na kůži

Existuje řada nákaz, které se projevují na kůži, avšak jde o **systémové nákazy**. Na kůži může být také přítomna **toxická či alergická reakce** na přítomnost mikroba.

10.2.2.2 Vlastní nemoci kůže

Od předchozích je nutno odlišit vlastní kožní onemocnění.

Tyto nemoci mohou být **primární** (postihovat přímo neporušenou kůži), nebo **sekundární** (napadat kůži např. rozškrabanou – tímto mechanismem třeba vzniká sekundární bakteriální infekce u dítěte trpícího roupy)

10.2.3 Virová exantémová onemocnění a jejich původci

- **HSV1** – první typ viru prostého oparu. Primární infekce se zpravidla projeví jako puchýřnaté onemocnění v ústech. K sekundární infekci dochází v důsledku projevu různých podnětů. Sekundární infekce se projevuje nejčastěji jako opar rtu (herpes labialis), ale může způsobit i opar v genitální oblasti, případně jinde.
- **HSV2** – „genitální“ typ viru prostého oparu, který však často napadá i oblast rtů a obličej
- **VZV** – varicela zoster virus (virus planých neštovic a pásového oparu) způsobuje u dětí plané neštovice, u dospělých pak pásový opar. Šíří se podíl nervových vláken. Tvar pásu má proto opar pouze na trupu, protože inervace hlavovými nervy rozhodně tvar pásů nemá.
- **Virus spalniček** – vyskytuje se zejména u neočkovaných dětí. Z dětských exantémových virů je doprovázena největší bolestivostí a horečkou. Vzácné, ale závažné jsou komplikace.
- **Virus zarděnek** – také zde je výskyt výrazně menší než před zahájením očkování
- **Parvovirus B19** – způsobuje pátou dětskou nemoc – megalerythema infectiosum
- **Virus HHV6** (šestý lidský herpesvirus) a **virus HHV7** způsobují tzv. šestou dětskou nemoc – roseola infantum neboli exanthema subitum.
- Také **EB virus**, **cytomegalovirus** a další mohou způsobovat exantémové onemocnění.

10.2.4 Některá bakteriální exantémová onemocnění

(systémová bakteriální onemocnění s kožními projevy)

- **Spála – scarlatina:** způsobuje ji *Streptococcus pyogenes*, ale jen některé jeho kmeny – ty, které produkují tzv. erythrogenní toxin. Vzácně způsobují podobné příznaky i stafylokoky
- **Erysipel – růže** vyvolává týž mikrob, ale jinými mechanismy a u podstatně starších osob
- **Skvrnky u meningokokové meningitidy** mohou upozornit na správnou diagnózu
- **Erythema migrans** – stěhovavé začervenání u lymeské borreliózy

10.2.5 Nemoci postihující primárně přímo kůži

- **Bakteriální** – nejčastěji stafylokoky (hnisavá ložiska přímo v kůži, ve vlasech, nehtech apod.).
- **Houbová** – nejčastěji rody *Trichophyton* a *Epidermophyton* (více v kapitole 13).
- **Parazitární** – např. svrab, ale i např. různé tropické parazitózy. Více v kapitole 13.

10.2.6 Diagnostika nemocí s kožními projevy

Jak již bylo řečeno, u **virových dětských exantematóz** není laboratorní diagnostika nutná, nemoci jsou poznatelné klinicky. U spály je podstatné vyšetření výtěru z krku, které odhalí streptokoka, případně další pomocná vyšetření (CRP). U infekcí kůže jako takové se odebírá hnis či exsudát (je-li co odebrat), jinak se provádějí stěry, otisky apod.

10.3 Infekce v těhotenství, infekce plodu a novorozence

10.3.1 Základní pojmy

Infekce plodu se označují jako infekce **kongenitální** (vrozené), méně často jako infekce **intrauterinní**, těsně před porodem získané se někdy nazývají **prenatální**. Jsou následkem matčiny nákazy, jež se přenesla na její plod. Naproti tomu infekce novorozence (**neonatální infekce**) jsou způsobeny agens nalézajícími se v jeho okolí. Infekce zde získané během porodu lze označit jako infekce **perinatální**, infekce získané později, do 4 týdnů života jako infekce **postnatální**.

10.3.2 Vrozené (kongenitální) infekce

Většina mikrobů je teoreticky schopna zničit plod a způsobit jeho potrat, příp. porod mrtvého dítěte. Plodové obaly a placenta však poskytují dostatečnou ochranu proti běžným mikrobům. Existují přesto mikroby, které tuto ochranu překonávají a nakazí plod. Je-li tato infekce mírná,

plod přežívá a narodí se dítě s vrozenými vadami (hlavně při infekci v prvních měsících) nebo s vrozenou infekcí. Pro svůj nezralý imunitní systém nedovede infekci zlikvidovat a zůstává nakaženo ještě dlouho po narození.

10.3.2.1 Přehled původců

K viru **zarděnek** je plod nejvímavější v prvních třech měsících těhotenství. Rovněž vrozená **cytomegalie** (infekce cytomegalovirem) se projevuje psychomotorickou retardací, poruchami oka a postižením sluchu a dalšími problémy. Následkem i bezpříznakové infekce matky v těhotenství prvokem *Toxoplasma gondii* může být potrat, porod mrtvého plodu nebo vrozená **toxoplazmóza**. Vrozená **syfilis** je dnes vzácná díky screeningu těhotných. Vzácná je i vrozená **listerióza**. Infekce **virem varicelly-zosteru** (VZV, plané neštovice a pásový opar) v prvním trimestru může výjimečně též vyvolat vznik vrozených vad. Plod může být **dále** ohrožen i při infekci matky parvovirem B19, virem herpes simplex (HSV), virem HIV a dalšími.

10.3.2.2 Diagnostika hrozcí, probíhající či proběhlé vrozené infekce

Screening v těhotenství se týká například syfilis

Vyšetření při potížích by mělo být samozřejmostí

Vyšetření potracených plodů, živých i mrtvých novorozenců přímým průkazem nebo průkazem protilátek

10.3.2.3 Léčba a prevence vrozených infekcí

Léčba závisí na tom, o kterou infekci jde. U bakteriálních je cílená antibiotická.

10.3.3 Novorozenecké (neonatální) infekce

Perinatálně čili během porodu se novorozenec nakazí obvykle při průchodu infikovanými porodními cestami. **Postnatální infekce (po porodu)** hrozí spíše v nemocničním prostředí.

10.3.3.1 Přehled původců perinatálních infekcí

- *Chlamydia trachomatis* – serotypy D až K.
- *Neisseria gonorrhoeae* (může také způsobovat **blenorhoea neonatorum**)
- *Streptococcus agalactiae*
- *Listeria monocytogenes*
- **Kandidy**
- **Virus hepatitidy B** (HBV)
- **Virus prostého oparu** (HSV), působí těžký generalizovaný novorozenecký opar.
- **Virus planých neštovic-pásového oparu** (VZV), může rovněž vyvolávat závažné infekce
- Z dalších původců lze zmínit například enteroviry, virus HIV či některé enterobakterie.

10.3.3.2 Přehled původců postnatální infekce

Po narození stále trvá riziko infekce z porodních cest, protože kůže novorozence jimi může být kolonizována. Hovoříme o **časných infekcích**. U infekcí z prostředí se hovoří o **pozdních novorozeneckých infekcích**.

Hlavní původci:

- *Streptococcus agalactiae*
- **Enterobakterie**
- **Zlaté stafylokoky**
- **Virus prostého oparu**
- **Salmonely**
- *Pseudomonas aeruginosa*

10.3.3.3 Laboratorní průkaz novorozeneckých infekcí

Odběr odpovídá klinickým příznakům. Je také nutno **uvést na původku, o jaké vyšetření jde**.

10.3.3.4 Léčba a profylaxe novorozeneckých infekcí

Závisí na typu mikrobiálního agens.

10.4 Nozokomiální nákazy

10.4.1 Definice a rozdělení nozokomiálních nákaz

10.4.1.1 Definice nozokomiálních nákaz

Nozokomiální nákazy (NN) jsou infekce vzniklé v souvislosti s pobytem ve zdravotnickém zařízení.

Mezi NN nepatří infekce zdravotnického personálu. Je ale jasné, že problematika profesionálních infekcí ve zdravotnictví s problematikou NN úzce souvisí a zpravidla jsou řešeny současně.

Synonymem je pojem *nozokomiální infekce (NI)* nebo anglická zkratka *HAI (hospital acquired infections)*. Trochu širší je pojem *HCAI (healthcare associated infections)*, který zahrnuje i infekce ve spojení se zdravotní péčí mimo nemocnici. Vzhledem k rozvoji ambulantních zákroků a jednodenní chirurgie lze předpokládat zvýšení počtu HCAI u nehospitalizovaných pacientů.

10.4.1.2 Rozdělení nozokomiálních nákaz

Existuje několik způsobů, jak nozokomiální nákazy klasifikovat. Nejčastěji se používají tyto:

- **Exogenní NN:** zdroj = ostatní pacienti, personál, prostředí; cesta přenosu = nejčastěji neumyté ruce personálu, případně používané nástroje. Často se šíří po oddělení.
- **Endogenní NN:** zdroj = sám pacient (například při operaci). Tyto infekce jsou závažné z hlediska pacienta, ale méně z hlediska oddělení, protože u nich zpravidla tolik nehrozí další přenos. Lze jim přecházet vhodnou profylaxi při určitých infekcích.
- **Specifické NN** jsou takové, ke kterým stěží mohlo dojít jinde než ve zdravotnickém zařízení, jsou vázány na to, jací pacienti v zařízení jsou a jak zařízení funguje.
- **Nespecifické NN** jsou takové, ke kterým mohlo dojít kdekoli, a ve zdravotnickém zařízení k nim došlo jen náhodou. Nelze proti nim ani nějak specificky zasahovat.

10.4.2 Důsledky NN

- **Zvýšená úmrtnost** – až o 40 % (odhadem u nás až stovky úmrtí ročně)
- **Prodloužení hospitalizace** (o týdny) a její zdražení (o desetitisíce i více Kč/případ)
- **Ekonomické ztráty** cca 1,5 miliardy Kč/rok
- Nutná další **antibiotická terapie** (jednak stojí hodně peněz, jednak má nežádoucí účinky)
- Pacienti s nozokomiální nákazou jsou zase **zdrojem pro další pacienty**

V žádné zemi na světě se nepodařilo zabránit všem případům NN. Nicméně se tvrdí, že nejméně jedné třetině NN by bylo možno zabránit.

10.4.3 Hlavní druhy NN

10.4.3.1 Močové infekce

Jsou důležité zejména u katetrizovaných nemocných. Představují až cca 40 % všech NN.

10.4.3.2 Respirační infekce

Představují cca 20 % všech NN. Patří sem zejména tyto typy infekcí:

- **Ventilátorové pneumonie časné** – do 4. dne hospitalizace ("lepší" možnost – pacient je zpravidla infikován komunitním kmenem, který si sám do nemocnice "přinesl" zvenčí)
- **Ventilátorové pneumonie pozdní** – od 5. dne hospitalizace (původci jsou vysoce rezistentní nemocniční kmeny)
- **Aspirační pneumonie** (při zvracení, u pacientů s poruchami vědomí apod.)
- **Jiné respirační infekce**

10.4.3.3 Hnisavé infekce operačních ran

Také tyto představují cca 20 %.

10.4.3.4 Infekce krevního řečiště

Jsou to především sepsy při zavedených i. v. katétrech..

10.4.4 Původci NN

10.4.4.1 Obecná charakteristika původců NN

Jako původci NN se uplatňují mikroby, které zpravidla nejsou příliš virulentní (zdravého člověka by nenapadly), ale zato se dokáží velice dobře adaptovat na nemocniční prostředí. Zpravidla se rychle selektují kmeny odolné vůči desinfekci a rezistentní k široké škále antimikrobiálních látek. Jsou to zpravidla původně mikroby ze zevního prostředí, často patogeny rostlin.

10.4.4.2 Nejdůležitější původci NN

- **Gramnegativní nefermentující tyčinky** (*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* a rod *Acinetobacter*).
- **Klebsiella** a **Serratia** jsou nejvýznamnější původci NN ze skupiny **enterobakterií**. To ale neznamená, že by třeba **Escherichia coli** nebyla významným původcem zejména močových NN, a že by se nemohly uplatnit i další rody (**Proteus**, **Providencia**, **Enterobacter** a další).
- **Legionely** se uplatňují zejména v zařízeních se špatnou klimatizací nebo rozvody vody. **Staphylococcus aureus** se uplatňuje hlavně u katetrových sepsí (sepsí způsobených kontaminovanými žilními katetry). Zde se uplatňují i **koaguláza negativní stafylokoky**.
- **Enterokoky** včetně vankomycin-rezistentních kmenů

10.4.4.3 Polyrezistentní kmeny

Velmi důležité a závažné jsou NN způsobované polyrezistentními kmeny, jako jsou MRSA, VRE či producenti ESBL.

10.4.5 Predispozice k NN

10.4.5.1 Věk

Rizikové jsou oba věkové extrémy, tedy jak novorozenecký a kojenecký věk, tak také stáří.

10.4.5.2 Základní onemocnění

Různá základní onemocnění jsou riziková v různé míře. Za závažné lze považovat zejména postižení jater, diabetes, nádory, úrazy i různá jiná onemocnění.

10.4.5.3 Léčebné vlivy

Léky mohou negativně ovlivnit odolnost organismu vůči infekci. Jde především o cytostatika, steroidy, antibiotika (hlavně širokospektrá – šance pro rezistentní bakterie a pro kvasinky)
Jiná léčba také přináší rizika. Zejména jde o veškeré zavádění cizorodých (hlavně plastových) materiálů do organismu – chlopenní náhrady, venosní katetry, ale i močové cévky

10.4.6 Nozokomiální infekce MRSA a podobnými kmeny

Mezi všemi nozokomiálními nákazami má zvláštní postavení „**obávaná MRSA**“. Její relativní popularita není tak docela zasloužená, protože mnohé jiné NN jsou přinejmenším stejně závažné.

10.4.6.1 Přehled metod prevence výskytu MRSA

- Protistafylokoková vakcinace
- Eliminace nosního nosičství zlatého stafylokoků (pouze u indikovaných osob, např. před chystanými operacemi)
- Opatření k redukci infekce žilních vstupů
- Omezení používání dialyzačních kanyl
- Opatření k omezení katetrových infekcí, zejména u pacientů s hemodialýzou a peritoneální dialýzou

(Podle www.ndt-educational.org/goldsmithslide.asp)

10.4.6.1.1 Očkování

U nás se momentálně nepoužívá.

10.4.6.1.2 Eliminace nosního nosičství

Má smysl pouze **krátkodobě, např. před výkonem.**

10.4.6.1.3 Prevence infekce žilních vstupů

I při ošetřování žilních vstupů lze použít lokální antibiotika (antiseptika), např. mupirocin, ale též např. jodové preparáty apod.

10.4.6.1.4 Omezení katetrových sepsí

- **Proplachování hemodialyzačních katetrů**
- Používání katetrů **napuštěných určitým antibiotikem**
- Spolupráce mikrobiologů a makromolekulárních chemiků při **vývoji nových plastů**, které nepodporují tvorbu biofilmu

10.4.6.1.5 Hlášení a identifikace kmene

- Všechny **suspektní kmeny MRSA musí být pečlivě ověřeny** a v případě positivity se **hlásí**
- Součástí komunikace mikrobiologie s oddělením je **konzultace vhodné a dostatečně dlouho trvající léčby infekce** (jde-li o infekci a ne jen kolonizaci)
- V případě výskytu kmene MRSA na oddělení se přistupuje k **zavedení opatření**

10.4.6.2 Léčba infekce způsobené MRSA, VRE a producenty betalaktamáz

Musí se volit taková antibiotika, která jsou účinná, a přitom ještě více nezvyšují riziko šíření rezistentních kmenů

10.4.6.3 Vyšetřování indikovaných pacientů na MRSA

- **Indikovaným pacientem** je pacient s anamnézou předchozího nosičství MRSA, pacient přeložený z oddělení, kde se kmen MRSA vyskytl aj. U indikovaných pacientů se odebírá zpravidla **výtěr z nosu a stěr z perinea**, případně **též z rány či jiného místa**.

10.4.6.4 Pacient s MRSA v nemocnici a v ambulantním zařízení

10.4.6.4.1 Bariérová opatření při ošetřování pacienta s MRSA

Při ošetřování pacienta s prokázanou infekcí nebo kolonizací MRSA musí být pacient **izolován** a je nutno dodržovat veškerá bariérová opatření, uvedená v kapitole 10.3.3.

10.4.6.4.2 Příjem a překlady pacientů s MRSA

- Při **příjmu** pacienta je třeba v rámci epidemiologické anamnézy **pátrat po informacích významných** pro možnou souvislost s výskytem MRSA.

10.4.6.4.3 Propuštění pacienta s MRSA

- Do **propouštěcí zprávy** informace o pozitivním nálezu MRSA. **Ošetřující lékař poučí pacienta.**

10.4.6.4.4 Pacient s MRSA v ambulantní péči

- Při poskytování primární péče pacientům s pozitivním nálezem MRSA je nutné **při ambulantních kontrolách** dodržovat **zásady bariérového ošetřování** a důsledně **provádět hygienu rukou personálu** (viz 10.3). Zpravidla **není nutné rutinní provádění mikrobiologického screeningu.**

10.4.6.4.5 Nosičství MRSA v personálu

V těchto případech je nutné přistupovat přísně individuálně:

- **Zhodnotit rizika**
- **Individuálně poučit** kolonizovaného pracovníka.

10.4.7 Obecné zásady boje s nozokomiálními nákazami

10.4.7.1 Využití „MRSA režimu“ i mimo výskyt MRSA

Na mnohých klinikách a nemocničních odděleních propukne velká panika, pokud se na oddělení vyskytne NN. Přitom by ale bylo lepší **dodržovat některá pravidla z „MRSA-režimu“ neustále**. Důležité je **nepřipustit, aby se ruce personálu staly cestou, kudy se nozokomiální patogeny přenesou z jednoho pacienta na druhého.**

10.4.7.2 Na co si dávat na oddělení pozor

10.4.7.2.1 Zdroj nozokomiální infekce

Zdrojem infekce může být **infikovaný nemocný** nebo **nosič** (např. u MRSA).

10.4.7.2.2 Cesta přenosu nozokomiální infekce

Nejčastější je cesta **rukama personálu** z pacienta na pacienta, zejména pokud se nedodržují pravidla bariérového ošetřovatelství. Velmi významná je také cesta prostřednictvím **vyšetřovacích a jiných pomůcek**.

Přenos vzduchem v silně kontaminovaném prostředí.

Významné jsou také **kontaminované povrchy a roztoky**.

10.4.7.3 Izolace pacienta a bariérové ošetřovatelské přístupy

10.4.7.3.1 Izolace pacienta

Izolace pacienta je vždy závažný krok. Je však účinným prostředkem v boji s NN. Může být provedena v podstatě ze dvou důvodů:

- **pacient je nakažen NN** a hrozí šíření této NN na další pacienty
- nebo naopak **chceme chránit zvýšeně vnímavou osobu** před možnou nákazou od ostatních osob (tzv. systémy s obrácenou izolací – imunosuprese, například neutropenie)
- Izolace pacienta **nesmí znamenat přerušení jeho společenských kontaktů** (etické zásady!) – návštěvy ovšem musí stejně jako personál **dodržovat pravidla bariérového kontaktu**.

10.4.7.3.2 Bariérový režim u izolačního pokoje

- Znamená režim, zahrnující desinfekci, pravidla pro vstup osob k pacientovi apod.

10.4.7.4 Desinfekce v prevenci NN

10.4.7.4.1 Střídání desinfekce

Na desinfekční prostředky nevniká pravá rezistence jako na antibiotika, bakterie se však mohou stát dočasně **nevnímavými vůči působení určitých látek**.

10.4.7.4.2 Úklid izolačního pokoje (neplatí pro systémy s obrácenou izolací)

V průběhu hospitalizace je důsledně prováděn průběžný úklid s desinfekcí. Úklid izolačního pokoje se zařazuje se až **na konec**.

10.4.7.5 Správná hygiena rukou

Správná **technika mytí rukou platí stejně i pro desinfekci**. Přinejmenším šest základních kroků je však nutno dodržet:

1. krok: Dlaň proti dlani.

2. krok: Dlaň pravé ruky přes hřbet levé a naopak.

3. krok: Dlaň proti dlani s propletenými prsty.

4. krok: Vnější část prstů dlani s „uzamčenými“ prsty.

5. krok: Sevřít pravý palec v levé dlani a vtírat krouživým pohybem a naopak.

6. krok: Krouživé pohyby sevřených konečků prstů pravé ruky v levé dlani a naopak.

Oblíbenou pověrou je tvrzení: „Když používám rukavice, nemusím si mýt a desinfikovat ruce“

Existují systémy, umožňující pod UV zářením zkontrolovat stav desinfekce rukou. Ty jsou při nácviu mytí rukou velice užitečné.

10.4.8 Zabezpečení oddělení a nemocnice proti NN

Nelze podcenit ani věci „konceptní“.

10.4.8.1 Stavebně technická opatření

- zabezpečení stavební **dispozice zdravotnického zařízení** (dost prostoru pro personál, jeho hygienu, pro oddělené skladování apod.)
- zabezpečení **teplé i studené vody**
- zabezpečení **odpadních vod i pevných odpadů**
- zabezpečení **topení či klimatizace** apod. (legionelóza!)

10.4.8.2 Zvyšování odolnosti pacientů i personálu

I toto je jedna z možných cest: pokusit se posílit obranyschopnost pacientů natolik, aby dokázali NN účinně vzorovat, případně jim vypomoci antimikrobiální látkou.

10.4.8.2.1 Imunizace některých nemocných

- proti **chřipce** u starších nemocných
- proti **pneumokokovým infekcím** (před transplantací, před odstraněním sleziny)
- proti **virové žloutence B**, proti **viru pásového oparu a neštovic**, proti **MRSA**

10.4.8.2.2 Antibiotická profylaxe

- tam, kde **pacient je oslabený** a kde hrozí při operačním zákroku průnik bakterií do tkáně
- týká se zejména tzv. „špinavé“ **chirurgie**

10.4.8.3 Řešení již vzniklých případů NN

Neřeší se vždycky stejně. Řeší se především, je-li větší počet případů, nebo jde-li o závažnou infekci (rezistentní kmeny)

10.4.8.4 Surveillance NN

Pojem surveillance (= "epidemiologická bdělost", tedy podrobné sledování) se používá v epidemiologii v řadě případů, tedy zdaleka ne jen u NN. Surveillance vždy představuje celý systém, ve kterém má každý účastník a každý krok své místo.

10.4.8.5 Je pro oddělení výhodné hlásit nozokomiální nákazu?

Zkušenosti ukazují, že **oddělení, která hlásí nozokomiální nákazy, je třeba chválit**, jakkoli se to zdá proti zdravému rozumu. Zkušenosti totiž rovněž ukazují, že **oddělení, která NN nehlásí dosti často nejsou „ta dobrá, která NN nemají“, ale naopak „ta špatná, která NN zametají pod koberec“**. Je nutno na všech stupních **motivovat pracovníky, aby NN hlásili**, protože jen tak lze s NN účinně bojovat!

10.4.8.6 Evidence NN mimo zdravotnické zařízení

Závažné případy NN by se měly promítnout i do přehledů územních orgánů hygienické služby.

Téma 11 Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky

11.1 Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu

Při odběru a transportu infekčního materiálu je potřeba dbát určitých pravidel, aby vyšetření mělo co největší smysl.

11.1.1 Indikace mikrobiologického vyšetření.

V některých případech si musí klinik ujasnit nejen **zda** se rozhodne pro vyšetření, ale také **pro jaké konkrétní vyšetření**.

11.1.2 Odběr vzorku

Problém má několik částí:

11.1.2.1 Volba vhodného vzorku

Příklady:

- u infekcí DCD není vhodný výtěr z krku, daleko lepší je vzorek sputa (ne sliny)
- nevhodný je roztok borové vody u výplachu dutin, neumožňuje přežití patogenů

11.1.2.2 Správné načasování:

- odebrat vzorek před zahájením antibiotické léčby
- u serologických vyšetření je nutno provést nejméně dva odběry, druhý za dva až tři týdny
- u některých parazitóz je vhodné načasování prodiskutovat s mikrobiologem

11.1.2.3 Správné provedení odběru

Tady bývá často zakopaný pes neúspěchu vyšetření – například

- jestliže se odebere moč nesterilně, zachytí se místo patogenů kontaminanta
- jestliže je odebrán výtěr z kořene jazyka namísto z tonzil, je výsledek značně zkreslený.

11.1.3 Vyplnění průvodky.

Správné vyplnění průvodky je uvedeno ve zvláštní kapitole.

11.1.4 Zaslání materiálu do laboratoře

- materiál je vždy třeba dopravit do laboratoře **co nejdříve**
- některé materiály mají zvláštní zásady zpracování

11.1.5 Vlastní zpracování materiálu v laboratoři

I tuto fázi může klinické pracoviště ovlivnit, např.:

- dohodnout s mikrobiologem některé **details zpracování**
- telefonicky zjistit **předběžné výsledky**

11.1.6 Zaslání výsledku

- zorganizovat tak, aby **nedocházelo ke zbytečným prodlevám**
- dnes zpravidla možnost využít **zasílání vzorků**

11.1.7 Interpretace výsledku a použití při terapii

- laboratoř zpravidla odfiltruje zcela **evidentní kontaminanty** z prostředí a náhodné nálezy
- v méně jednoznačných případech ovšem v každém případě **konečné rozhodnutí leží na klinickém pracovišti**

11.2 Přehled základních odběrových souprav a nádobek

Pro **nepřímý průkaz** používáme prakticky vždy zkumavku na sérum, neboť vzorkem je v tomto případě vždy srážlivá krev.

Pro **přímý průkaz** naopak můžeme použít nejrůznější typy odběrů. Zpravidla se jedná buďto o různé typy odběrových souprav („výtěrovek“) pro výtěry a stěry, nebo o různé nádobky, ve kterých se posílají tekuté a kusové materiály (moč, hnis, exsudát, mozkomíšní mok apod.)

11.2.1 Zásady pro použití odběrových souprav („výtěrovek“)

(v případě výtěrů a stěrů)

- **suchý tampon je zpravidla nevhodný**, s výjimkou PCR a některých průkazů virových (případně chlamydiových) antigenů
- používá se **transportních půd**, univerzální (pro bakteriologii) je půda Amiesova.
- pro **mykologii** se doporučuje souprava FungiQuick, zvláštní soupravy se používají také u **izolace virů a chlamydií**
- u **poševních a uretrálních výtěrů** je nejlepší kombinace Amies + C. A. T., kde Amies je na bakterie a C. A. T. na kvasinky a trichomonády

11.2.2 Zásady pro použití odběrových nádobek

(v případě tekutých a kusových materiálů)

- ve většině případů **nezáleží na typu nádobky**, ale jen na tom, aby nádobka byla sterilní
- je ovšem nutno respektovat požadavek případný požadavek na označení z důvodu usnadnění třídění vzorků
- nesterilní nádobky jsou přípustné jen u parazitologického vyšetření stolice
- u materiálů, kde je nutné též **anaerobní vyšetření**, je ideální zaslání **přímo v injekční stříkačce bez vzduchu** s jehlou nahrazenou speciálním uzávěrem
- u **hemokultur** se dnes používají speciální transportně-kultivační lahvičky pro automatickou kultivaci; lze je použít i pro některá další vyšetření
- u **dermatomykóz** se zasílají nehty, vlasy, šupiny a podobně
- u **izolace virů** nutno nádobku vložit do systému udržujícího teplotu kolem 0 °C

11.2.3 Jednotlivé typy odběrových souprav a nádobek

Souprava s bakteriologickou transportní půdou (nejčastěji Amiesovou) je základem všeho

Suchý tampon jen výjimečně: PCR nebo některé průkazy antigenu, kde nepotřebujeme živého patogena, ale jen jeho antigen či DNA, a transportní půda by byla spíše na škodu.

FungiQuick je souprava na vyšetření kvasinek. Většinou ale kvasinky vyrostou i z Amiesovy půdy.

Soupravy pro viry a pro chlamydie se používají výjimečně.

C. A. T. je souprava pouze pro gynekologické (popř. andrologické) vyšetření.

Zkumavky mohou mít různé rozměry a označení uzávěrů. Širší samostojací zkumavce říkáme **sputovka**, ale zdaleka nemusí sloužit jen k zaslání sputa.

Hemokultivační nádobka dnes obsahuje nejen protisrážlivou látku, ale i transportně-kultivační médium. Slouží pro automatickou kultivaci krví. Odběrové nádobky podobné hemokultivačním, rovněž sloužící pro automatickou kultivaci, se používají také u **vyšetření na tuberkulózu**.

11.2.4 Jiné typy odběrů než „výtěrovky“ a odběrové nádobky

V některých případech se doporučuje přímo v ordinaci **nátěr na podložní sklíčko** a to poslat.

V kožním lékařství se používají **otisky přímo na kultivační půdu**, která je pro tento účel nalita až po okraj Petriho misky (zpravidla se používá menších Petriho misek). **Urikult** je zvláštním způsobem zasílání moče.

11.3 Správně vyplněná průvodka (žádanka) a její význam

11.3.1 Osobní údaje

Precizní vyplnění **osobních údajů** (jméno, číslo pojištěnce, číslo odesílajícího zařízení, pojišťovna aj.) je velmi důležité. V případě chyb může dojít nejen ke zpoždění platby za vyšetření, ale může se také stát, že výsledek je omylem zaslán na jiné oddělení nebo přiřazen k jinému pacientovi.

11.3.2 Přesný popis materiálu a požadovaného vyšetření

11.3.2.1 Příklady častých chyb:

- **označeno pouze „výtěr“**, aniž by bylo zřejmé, zda se jedná o výtěr z krku, pochvy či odjinud; přitom v laboratoři se každý typ materiálu zpracovává poněkud odlišně
- **ani označení „stěr z rány“ nestačí** (je rozdíl, jde-li o ránu operační, traumatickou, zhnisanou, zda je lokalizována na bříše, na končetině či třeba perianálně).
- u „katetrizované moče“ rozlišit **katetrizaci kvůli odběru** (citlivější než moč běžně odebraná) od **moče z permanentního katetru** (naopak vyšší pravděpodobnost kontaminace)
- není uvedeno, zda je požadováno např. **anaerobní vyšetření** apod.

11.3.3 Diagnóza

Naprosto nezbytné je vyplnění skutečné diagnózy-

11.3.4 Další údaje

- uvést, zda jde o **akutní či déletrvající stav či kontrolu po léčbě**
- upozornit na **komplikovaný zdravotní stav pacienta**
- uvést **stávající nebo uvažovanou antibiotickou terapii**, případně i alergii na antibiotika
- **cestovatelská anamnéza** a **pracovní anamnéza**: práce v zemědělství, v lese aj.
- případně další důležité informace

V případě mimořádných vzorků nebo jakýchkoli pochyb je vždy dobré upozornit laboratoř i telefonicky

Téma 12 Mikrobiální osídlení ústní dutiny, ekologie dutiny ústní

12.1 Mikroflóra dutiny ústní

Mikroflóra dutiny ústní tvoří společně s mikroflórou střeva a mikroflórou ženské pochvy jedno ze tří nejbíhlejších mikrobiálních společenství v lidském těle. Zahrnuje více než 700 rodů mikroorganismů, z nichž některé dosud nebyly popsány a klasifikovány.

Mikroflóra dutiny ústní se skládá ze **stálé složky**, kterou představují komezálkové (tj. bakterie, které se s námi dělí o naše zdroje živin), a ze **složky přechodné**, což jsou bakterie, které se do ústní dutiny dostávají například s potravou zvenčí.

Mikroflóru ústní dutiny je nutno vnímat jako **ekologický systém** se vším všudy. Při pochopení jeho fungování je mimo jiné důležité vzít v úvahu, že bakterie (a další organismy, například kvasinky) při životě v ústní dutině nevykazují stejné vlastnosti jako když je pěstujeme na umělých kultivačních půdách. Zásadní je v této souvislosti tvorba biofilmu.

Mikroflóra ústní dutiny má významný vliv na **její zdraví** – poruchy tohoto ekosystému ovlivňují jak zubní kaz, tak také gingivitidu a parodontitidu, tedy zánět dásně a závěsného aparátu zubu, a případně i další onemocnění v oblasti ústní dutiny (záněty měkkých tkání v okolí úst, záněty slinných žláz a podobně). Ústní mikroby ale ovlivňují také **celkové zdraví organismu**; jak bude uvedeno dále, mají vliv na řadu celkových onemocnění.

12.1.1 Mikroflóra dásňového žlábků (sulcus gingivalis)

Bakterie dásňového žlábků hrají klíčovou roli při vzniku a vývoji onemocnění závěsného aparátu zubů. Přestože prostředí anatomicky souvisí s ústní dutinou, neproniká do něj kyslík, což umožňuje výskyt řady druhů anaerobních bakterií. Žlábek je omýván tzv. sulkární tekutinou, která dodává bakteriím sulku příslušné živiny.

12.1.1.1 Anaerobní bakterie gingiválního sulku

V gingiválním sulku mají velký význam anaerobní bakterie. Je ovšem třeba říci, že některé z nich ve skutečnosti nejsou pravé anaeroby. To platí i o **vláknitých grampozitivních mikroaerofilních bakteriích rodu *Actinomyces*** – *A. gerencseriae*, *A. georgiae*. Mikrobiologové je ale často po praktické stránce za anaeroby považují s ohledem na to, že jejich potřeba kyslíku je malá a dobře rostou v nedokonalé anaerobióze, kterou laboratoře zpravidla poskytují (vizte též kapitolu 3.5.2). Časté jsou také **gramnegativní anaerobní tyčinky**. Aktinomycety často doprovází (a podle toho se i jmenuje) bakterie s dlouhým názvem *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Dále nacházíme bakterie rodu *Prevotella* a *Porphyromonas* (zejména *Porphyromonas gingivalis* a *P. endodontalis*), významná je také *Tannerella forsythia*. Vřetenovitý tvar mají fusobakteria, například *Fusobacterium nucleatum*. Ze **spirochet** se vyskytuje zejména *Treponema denticola*, ale také další druhy, jako je *T. vincentii*, *T. pectinovarium* či *T. socranskii*.

12.1.1.2 Aerobní bakterie gingiválního sulku

Z bakterií, které jsou aerobní (přesněji fakultativně anaerobní) se v gingiválním sulku vyskytují především streptokoky. Nejčastěji jde o streptokoky s viridací (neboli alfa-hemolýzou). Ty lze dále rozdělit na jednotlivé skupiny.

Skupina *Streptococcus mutans*. Z této skupiny bývá izolován nejčastěji samotný *S. mutans*, méně často *S. sobrinus*, vzácně *S. cricetus* a *S. rattus*. Ze sacharózy tyto streptokoky tvoří lepkavé glukany a fruktany, rychle tvoří kyseliny ze sacharidů.

Skupina *Streptococcus salivarius* zahrnuje druhy *S. salivarius*, *S. vestibularis* – ve slinách a na povrchu jazyka. Sacharózu metabolizuje na fruktan levan, na půdách s tímto cukrem roste v mukózních koloniích, může vyvolat endokarditidu.

Skupina *S. mitis/S. sanguinis* představuje streptokoky druhů *S. mitis*, *S. oralis* a *S. peroris* – všechny se vyskytují na sliznici i v zubním plaku. Do této skupiny patří také *S. sanguinis* a *S. gordonii* –

najdeme je na jazyku, na bukalní sliznici a v zubním plaku. *S. sanguinis* dovede štěpit sekreční IgA. Většina druhů této skupiny se může podílet na vzniku subakutní bakteriální endokarditidy (loudavá sepe – sepsis lenta).

Skupina *S. anginosus* se vyznačuje růstem v drobných koloniích. Patří do ní zejména *S. anginosus* (v britské literatuře *S. milleri*), *S. constellatus* se dvěma poddruhy, *S. c. constellatus* a *S. c. pharyngis*, a *S. intermedius*. Kromě nosohltanu se nalézají zejména v gingiválních sulcích. Působí dentoalveolární a endodontické infekce.

12.2 Zubní plak

Zubní plak je typickým příkladem **mikrobiálního biofilmu**. Je to přilnavá mikrobiální vrstva na povrchu zubu. Je tvořena bakteriemi (živými i mrtvými), jejich produkty (zejména polysacharidovými hmotami) i hostitelskými složkami (ze slin). Zubní plak se nedá opláchnout, **odstranit jej lze pouze mechanicky** (praktickým dopadem je skutečnost, že při čištění zubů je podstatně důležitější mechanické působení kartáčku než složení zubní pasty, popřípadě ústní vody). Složení plaku závisí na jeho stáří a lokalizaci. Podle lokalizace se rozlišuje **supragingivální** a **subgingivální plak**.

12.1.1 Subgingivální plak

Existují dva druhy subgingiválního plaku – adherentní a neadherentní. **Adherentní plak** nasedá na kořen zubu, je to vlastně obdoba plaku supragingiválního. Obsahuje převážně grampozitivní tyčinky a vlákna (aktinomycety) a také grampozitivní koky. **Neadherentní plak** se vyskytuje mezi adherentním plakem a povrchem měkké tkáně dásně. Jeho typickou složkou jsou gramnegativní anaerobní bakterie.

12.1.2 Mikroorganismy v zubním plaku

V supra- i subgingiválním plaku je nejčastěji zastoupeným rodem *Actinomyces* sp., tedy vláknitá, částečně acidorezistentní mikroaerofilní bakterie. Přesto existují rozdíly mezi oběma typy plaku:

Supragingivální plak obsahuje významně vyšší množství některých druhů aktinomycet, neisserií, streptokoků, celkově bakterií takzvaného „zeleného“ (green) a „fialového“ (purple) komplexu.

Subgingivální plak naproti tomu obsahuje významně vyšší množství gramnegativních anaerobních tyčinek rodu *Prevotella* a především bakterií druhů *Tannerella forsythia* a *Porphyromonas gingivalis*, což jsou bakterie „červeného“ (red) a „oranžového“ (orange) komplexu se vztahem k paradontitidě. V neadherentním plaku se ovšem vyskytují i u zdravých osob – záleží na množství a vzájemných poměrech k jiným bakteriím.

Periodontální patogeny jsou ovšem někdy přítomny jen v supragingiválním plaku. Supragingivální plak tedy funguje jako rezervoár infekce nebo reinfekce subgingiválního prostoru

12.1.3 Vývoj zubního plaku

12.1.3.1 Vznik a zrání zubního plaku

Vývoj zubního plaku začíná vytvořením takzvané **pelikuly** (anglicky acquired pellicle). Je to tenká (0,5 až 1 μ m) vrstvička, vytvářející se na očištěném povrchu zubů během několika minut až hodin. Tvoří ji glykoproteiny, které jsou adsorbované ze slin. Působí zprvu jako ochranná vrstva, která chrání sklovinu před vlivem volných kyselin, postupně je ale **osídlována mikroorganismy**. Dochází k **adhezi** bakterií, zejména grampozitivních koků a různých tyčinek. Následně se tyto bakterie shlukují – dochází k jejich **agregaci** a je produkována hlavní složka mezibuněčné matrix, kterou jsou **polysacharidy**. Postupně se do plaku zapojují další bakterie. Zrání plaku **urychluje sacharóza**, ale je možné i bez ní – streptokoky, které jsou v plaku zapojené, totiž samy produkují polysacharidy i v období, kdy nemají přísun sacharidů zvenčí. Ve spodních vrstvách mezitím dochází k **mineralizaci plaku**. Tvoří se **zubní kámen**, který obsahuje 80 % minerálů. Vlivem bakteriálního metabolismu se ale zároveň snižuje pH (vznikají kyseliny mléčná, propionová a různé další). Pokud pH poklesne z původní hodnoty kolem 6,5 na hodnotu 5,5 a

méně, začne docházet k demineralizaci skloviny, což je proces, který může postupně vést ke vzniku **zubního kazu** (jak o tom bude řeč dále).

Subgingivální kámen (tzv. konkrement) obsahuje gramnegativní mikroorganismy. Je porézní.

Jeho porozita je dána tím, že vláknité bakterie přiléhají palisádovitě k povrchu zubu a dochází k ukládání mikrobiálních složek působících toxicky na tkáňě parodontu.

12.1.3.2 Druhé změny v zubním plaku v průběhu času

Do 24 hodin v plaku převládají **streptokoky**, a to především ze skupin *mutans*, *sanguis* a *mitis*

Během prvních dnů přibývá **grampozitivních tyčinek** a **vláknitých mikroorganismů** – laktobacily a aktinomyceety

Za týden nalezneme **sloupcovité mikrokolonie koků**, na něž při povrchu plaku nasedají tyčinky až vlákna

Za tři týdny se v plaku objevuje **převaha vláknitých mikrobů**, na povrchu nalézáme útvary vzhledu kukuřičných klasů, kde je centrální vlákno (grampozitivní anaerobní nespíralující tyčinky, například *Eubacterium yurii*) obklopeno grampozitivními koky.

V jedné studii (Al-Ahmad, J Med Microbiol, 2007) bylo zjištěno, že tloušťka biofilmu stoupá z asi 15 µm po jednom dni až na asi padesát µm po týdnu. Přitom podíl streptokoků byl zásadní v jednodenním plaku, po 7 dnech jeho podíl klesal. Podíl *Fusobacterium nucleatum* klesal po 2 dnech, naopak po sedmi dnech začal stoupat. Během prvního týdne klesá také podíl aktinomyceet.

12.1.4 Plak na zubních náhradách

Plak na zubních náhradách má složení odlišné oproti plaku na zubech, navíc je toto složení poměrně kolísavé.

V oblastech dotýkajících se sliznice převládají i tady **streptokoky** skupiny *mutans* a *sanguinis*, častým nálezem jsou ale také **kvasinky** rodu *Candida*.

Z **anaerobních bakterií** nalézáme nejčastěji grampozitivní tyčinky včetně vláknité bakterie *Actinomyces israelii* a *veillonely*.

Poměrně často se objevují také **stafylokoky**, hlavně *Staphylococcus aureus*.

12.1.5 Zubní plak v dětství

Děti před prořezáním prvních mléčných zubů zubní plak v pravém slova smyslu nemají. Je to dáno tím, že streptokoky, které mají při jeho vzniku zásadní význam, potřebují ke svému dlouhodobému usídlení povrch, která je pevný a na kterém neprobíhá tzv. deskvamace (odlupování povrchových vrstev epitelu). To dásňová sliznice neumožňuje. Ke kolonizaci pak dochází zpravidla od matky. Je tedy důležité, jakou mikroflórou je osídlena ústní dutina matky.

Téma 13 Onemocnění v dutině ústní s účastí mikrobů (zubní kaz, parodontitida a další)

13.1 Zubní kaz

13.1.1 Zubní kaz a historie

Archeologické nálezy ukazují, že zubní kaz je **velmi staré onemocnění**. Nárůst počtu kazů během neolitu (mladší doby kamenné) byl zřejmě způsoben zvýšením podílu rostlinné potravy, obsahující sacharidy. Počátek kultivace rýže v jižní Asii měl též za následek zvýšení výskytu zubního kazu. Také sumerské texty z období 5000 let př. n. l. popisují „zubní červy“ způsobující zubní kaz.

Na druhou stranu se výskyt zubního kazu zvýšil v posledních desetiletích s tím, jak **stoupá spotřeba jednoduchých cukrů**. O zubním kazu se tedy dá uvažovat i jako o civilizačním onemocnění, a dokonce se často považuje za nejčastěji se vyskytující civilizační onemocnění.

13.1.2 Mikrobiologie zubního kazu

Je-li tedy zubní kaz (karies) klasifikován jako civilizační onemocnění, je to zároveň **nejčastější civilizační onemocnění vůbec**. Jde přitom sice o relativně méně závažné onemocnění třeba ve srovnání s kardiovaskulárními chorobami, na druhou stranu při jeho častém výskytu je významnou chorobou, která obtěžuje pacienty a jejíž léčba stojí mnoho peněz.

Definice zubního kazu mohou být různé. Obvykle se jako zubní kaz označuje **ohraničená destrukce tkání zubu**. Z mikrobiologického hlediska je zubní kaz **chronická infekce vyvolaná normální ústní mikroflórou**.

Poškození je výsledkem demineralizace tvrdých tkání zubu kyselinami produkovanými mikroorganismy zubního plaku při metabolismu sacharidů z potravy.

13.1.3 Průběh a léčba zubního kazu

Prvotní poškození (léze) skloviny – takzvaná **bílá křídová skvrna** – ještě nutně nemusí vést k zubnímu kazu. Za příznivých okolností může dojít k remineralizaci, tedy doplnění minerálních součástí skloviny a tedy k její obnově. Jinak ale proces narušení skloviny postupuje do **zuboviny** (dentinu) a zubní dřeně (pulpy). Zde vede k zánětu (pulpitidě). Pokud proces pokračuje, vede nakonec k **nekróze a gangréně zubní dřeně**. Slovo „nekróza“ znamená, že tkáň odumírá; gangréna (česky „sněť“) je nekróza druhotně napadená mikroby. Může také dojít ke vzniku akutního nebo chronického zánětu v okolí kořene zubu (tzv. periapikální záněty).

Pokud zubní kaz postihl pouze sklovinu a zubovinu (dřeň není přímo zasažena, je pouze překrvená), řeší se klasicky vyčištěním ložiska a vyplněním dutiny zubní plombou. U skutečných pulpitid je již nutné tzv. **endodontální ošetření**. To spočívá v odstranění (exstirpaci) nemocné dřeně. Následně je nutno provést správné opracování, rozšíření a zaplnění kořenového kanálku zubu. Pokud ani endodontální ošetření nestačí, je někdy nutná stomatochirurgické odstranění kořene zubu i s okolní zánětlivou tkání (**resekce kořene zubu**). V těchto případech se zpravidla zároveň sahá po antibiotické léčbě, většinou takové, aby léčba byla schopna zasáhnout příslušnou tkáň (tedy například linkosamidová antibiotika).

Za velmi nejistý prostředek při boji se zubním kazem lze považovat ozón. Ozón je silný oxidační prostředek na bázi kyslíku, myšlenka jeho použití počítá s tím, že usmrtí bakterie na povrchu zubu i v hloubce napadených tkání a zároveň deaktivuje kyseliny, které zub rozpouštějí. Potom lékař zub lokálně ošetří fluoridovými preparáty, aby došlo k remineralizaci. Hluboké oxidační účinky ozónu by přitom mohly být využity i pro bělení zubů či ošetření měkkých tkání jako afty, akné nebo úporné infekční koutky. Na druhou stranu ale ozón může přispívat i k destrukci zdravých tkání.

13.1.3.1 Komplikace zubního kazu: dentoalveolární absces

Dentoalveolární absces je onemocnění, při kterém se vyskytuje hnisavé ložisko v oblasti zubního kořene (označuje se také jako **periapikální absces**). Zpravidla vzniká jako komplikace zubního kazu, kdy bakterie pronikají dutinou, kterou kaz vytvořil, přes zubovinu až do zubní dřeně a odtud dále ke kořeni zubu, avšak existují i jiné možnosti. Možný je například průnik bakterií přes vazivo oddělující daseň od zubu (v tom případě jde spíše o komplikaci gingivitidy, respektive paradontálního abscesu – viz dále), případně přímo přes periapikální cévy. I když představuje komplikaci onemocnění, jako je zubní kaz nebo gingivitida, může se sám stát zdrojem dalších komplikací, pokud se z něj hnis rozšíří dále.

Osudy hnisu, který se vyskytl v okolí zubního kořene, mohou být různé. Může zůstat dlouhodobě **na původním místě** – v tom případě se rozvíjí chronický absces. Nebo se může šířit **podél měkkých tkání**. V takovém případě vznikají abscesy měkkých tkání, choboty spojující absces s kůží nebo přímo povrchem těla, nebo (v případě šíření do podkoží) vzniká celulitida. Dále je možné, že se šíří **do kostí** a vzniká osteomyelitida (zánět kostní dřeně). Další možností je, že se hnis šíří krevní cestou – vzniká endokarditida nebo metastatický absces v jiných orgánech. Hnis se také může šířit **podél svalových obalů** (fascií) cestou nejmenšího odporu. Záleží na směřování procesu, v některých případech může dojít například i k uzavěru dýchacích cest tím, jak proces expanduje.

13.1.4 Faktory ovlivňující vznik zubního kazu

Zubní kaz je bezpochyby multifaktoriální onemocnění, to znamená, že nelze stanovit jednu jedinou příčinu. Na vzniku zubního kazu se podílejí zejména:

1. endogenní faktory
2. vliv stravy

3. mikroby zubního plaku

13.1.4.1 Endogenní faktory při vzniku zubního kazu

Významný je zde tvar zubu a struktura jeho skloviny. Hlavní roli ale hraje množství, průtok a složení slin, včetně množství sekrečních imunoglobulinů třídy IgA. Jak již bylo řečeno v předchozí kapitole, za normálních okolností tvoří pelikula ze slin ochrannou vrstvu, která chrání sklovinu před působením volných kyselin.

13.1.4.2 Vliv stravy při vzniku zubního kazu

Existuje přímý vztah mezi přívodem sacharidů a zubním kazem. Jednotlivé cukry lze hodnotit s ohledem na jejich kariogenitu (schopnost podporovat vznik kazu). Nejvíce kariogenním cukrem je **sacharóza**: je totiž výborně rozpustná a snadno difunduje do plaku. Kariogenní streptokoky ji mění na nerozpustný glukán. Ten usnadňuje počáteční přilnutí (adhezi) mikrobu na povrch zubů, je zdrojem živin a účastní se na tvorbě mezibuněčné matrix.

13.1.4.3 Úloha mikrobů při vzniku zubního kazu

Prakticky všechny mikroby zubního plaku mají kvůli svým biochemickým vlastnostem kariogenní účinek. Streptokoky skupiny *mutans*, laktobacily a aktinomyceety jsou při vzniku a vývoji kazu nejdůležitější. Avšak i kombinace jiných mikrobů může zahájit proces vzniku zubního kazu.

13.1.5 Význam jednotlivých mikrobů při vzniku zubního kazu

13.1.5.1 Rod *Streptococcus*

V případě rodu *Streptococcus* se uplatňují prakticky výhradně druhy, které na krevním agaru mění červené krevní barvivo na zelené, tedy tzv. viridující či alfa-hemolytické druhy. I mezi nimi je ale nutno rozlišit několik významných skupin. Byly již uvedeny v kapitole 12.1.1.2, přesto je zde uvádíme znovu, z hlediska jejich vztahu k zubnímu kazu.

13.1.5.1.1 Skupina *S. mutans*

Nejčastěji se izoluje přímo druh *S. mutans* (serotypy c, e a f), méně často druh *S. sobrinus* (serotypy d a g), vzácně *S. cricetus* a *S. rattus*. Ze sacharózy tvoří lepkavé glukany a fruktany, rychle tvoří kyseliny ze sacharidů. Tato skupina se považuje **z hlediska vzniku zubního kazu za nejrizikovější**.

I v rámci této skupiny zřejmě existují rozdíly, některé kmeny se zdají být více kariogenní než jiné. O přesné úloze této skupiny se toho pořád neví dost, přesto existují určitá celkem jasná fakta:

- Těchto streptokoků se ve slinách a plaku najde čím více, čím větší je pravděpodobnost přetrvávajícího výskytu (prevalence) nebo nového vzniku (incidence) zubního kazu
- Tyto streptokoky bývají izolovány z povrchu zubů bezprostředně před výskytem kazu
- Imunizace zvířat specifickými serotypy *S. mutans* snižuje výskyt kazu (u lidí je očkovací látka ve stádiu výzkumu)
- Existuje také úměra mezi zhoršením zubního kazu a počtem těchto streptokoků
- Tvoří ze sacharózy glukany, kterými se pojí k povrchu zubů a sobě navzájem
- Nejúčinněji ze všech streptokoků vyvolávají kaz u zvířat
- Jsou schopny rychle tvořit kyseliny a množit se i za nízkých hodnot pH
- pH k demineralizaci skloviny dosahují rychleji než ostatní bakterie
- Tvoří si zásoby např. glykogenu (pro případ nízké hladiny sacharidů v potravě)

13.1.5.1.2 Skupina *S. salivarius*

Tyto streptokoky se vyskytují především ve slinách a na povrchu jazyka. Sacharózu metabolizují na fruktan levan. Na půdách s tímto cukrem roste v mukózních (hlenovitých) koloniích. Tyto streptokoky se na vzniku zubního kazu podílejí zřejmě méně, mohou však vyvolat endokarditidu.

13.1.5.1.3 Skupina *S. sanguinis* a *S. mitis*

S. sanguinis a *S. gordonii* se opět vyskytují na jazyku, na bukalní sliznici (= zevnitř tváře) a v zubním plaku. *S. sanguinis* dovede štěpit sekreční IgA. Oba druhy jsou významnými původci subakutní bakteriální endokarditidy sepsis lenta.

Dalšími streptokoky této skupiny (někdy vyčleňovanými do zvláštní skupiny) jsou *S. mitis*, *S. oralis* a *S. peroris* – najdeme je na sliznici i v zubním plaku a s výjimkou *S. mitis* i ony mohou vyvolat sepsis lenta.

13.1.5.1.4. Skupina *S. anginosus*

Bakterie této skupiny rostou v drobných koloniích. Patří sem *S. anginosus* (v britské literatuře *S. milleri*), *S. constellatus* se dvěma poddruhy – *S. c. constellatus* a *S. c. pharyngis* – a ještě *S. intermedius*. Kromě nosohltanu se nalézají zejména v gingiválních sulcích. Působí dentoalveolární a endodontické infekce.

13.1.5.2 Laktobacily

V kariézních lézích se nacházejí ve vysokém počtu, zdá se ale, že hrají úlohu spíše ve zhoršování kazu, který už vznikl, než přímo při jeho vzniku. Také u laktobacilů byl vysledován **vztah mezi aktivitou kazu a jejich počty** v plaku a ve slinách. Množí se i při pH nižším než 5, přičemž samy tvoří kyselinu mléčnou (proto se ostatně jmenují právě laktobacily). Ze sacharózy tvoří extracelulární i intracelulární polysacharidy. Některé kmeny v experimentu vyvolaly kaz u bezmikrobních zvířat. Přitom v zubním plaku ze zdravých zubů jsou jejich počty obvykle nízké

13.1.5.3 Další mikroby

Aktinomycety (grampozitivní vláknité mikroaerofilní bakterie) mají vztah ke kořenovému kazu – zvláště se to týká druhu *Actinomyces viscosus*. Přesto ale úloha aktinomycet ve vzniku zubního kazu není zcela jasná.

Veillonely (gramnegativní anaerobní koky) se vyskytují ve vyšších počtech ve většině supragingiválních plaků. K růstu vyžadují kyselinu mléčnou. Nejsou totiž schopny využít sacharidy z potravy a potřebují tedy kyselinu mléčnou, kterou vytvořily jiné mikroby. Přitom ji mění na řadu slabých, málo kariogenních organických kyselin. Teoreticky by tedy mohly mít na zubní kaz snad i blahodárný účinek, ovšem není to úplně jasné.

Ve výzkumu se při srovnávání osob bez kazů a s kazem celkový objem veillonel se významně neliší, ukázalo se ale, že veillonely z míst bez kazů jsou rozmanitější, u osob s kazem byla jejich rozmanitost menší. Co se týče jednotlivých druhů, u obou skupin byly nalezeny druhy *V. parvula*, *V. dispar*, *V. atypica*. Druh *V. denticariosa* se našel jen u osob s kazem, naopak *V. rogosae* jen u jedinců bez zubního kazu. Zjistilo se také, že v případě výskytu kazu je pravděpodobnější nález jednoho hlavního druhu.

13.1.6 Ochranné faktory a prevence zubního kazu

13.1.6.1 Látky snižující riziko zubního kazu

Mléčné bílkoviny mají nárazníkovou (pufrovací) schopnost, takže snižují riziko závažného snížení pH. Kyselost se snižuje i tím, že dekarboxylují aminokyseliny z rozštěpeného kaseinu.

Mléčný kasein působí příznivě díky adsorpci na povrch zubů. Díky této kaseinové vrstvičce se zhoršují podmínky pro adhezi streptokoků skupiny *mutans*.

Fosfát vápenatý z kaseinu urychluje remineralizaci skloviny.

Fluoridy se také podílejí na remineralizaci zubu, kromě toho potlačují glykolýzu a poškozují některé funkce mikrobů.

Také **xylitol** inhibuje růst mikrobů.

13.1.6.2 Prevence zubního kazu

Nejlepší prevencí zubního kazu je úprava stravovacích zvyklostí, případně také aplikace fluoridů a samozřejmě především správná péče o hygienu dutiny ústní.

13.1.7 Mikrobiologické testování rizika kazu

Vzhledem k tomu, že poznatky v této oblasti se stále doplňují a upřesňují, je mikrobiologické testování rizika kazu stále spíše v začátcích. Zpravidla se vychází ze vzorku zubního plaku nebo ze vzorku slin (někdy provokovaných například žvýkáním parafinové kuličky), ve kterém je kvantitativně stanovováno množství *S. mutans* a *Lactobacillus* sp. Za vysoké riziko se považuje více než 10^6 bakterií *S. mutans*, případně více než 10^5 laktobacilů na jeden mililitr slin. Naopak nízké při počtech pod 10^5 *Streptococcus mutans* či 10^4 laktobacilů. Mezi těmito hodnotami jde o riziko hraniční.

13.2 Gingivitida a parodontitida

Gingivitida (záněť dásně) a parodontitida (záněť závěsného aparátu zubu) patří vedle zubního kazu mezi nejdůležitější patologické stavy v ústní dutině. Zpravidla se dávají do vzájemné souvislosti, protože parodontitida většinou vzniká na podkladě chronické gingivitidy.

13.2.1 Vznik gingivitidy

Vzniku gingivitidy zpravidla předchází **přítomnost zubního plaku na okraji dásní** – v místech připojení dásně k zubu. Tkáň dásně v okolí dásňového žlábků se chronicky zanítí a vznikne záněť okraje dásně – **marginální gingivitis**. Záněť přitahuje anaerobní proteolytické bakterie. Dochází ke zvýšené migraci bílých krvinek, zejména polymorfonukleárních granulocytů. Záněť naruší funkci spojovacího epitelu, plak proniká pod dásně směrem ke kořeni zubu. Příznaky bývají tím výraznější, čím je plak starší a silnější.

13.2.2 Mikrobiologie chronické marginální gingivitidy

Chronická marginální gingivitida se projevuje jen občasným krvácením z dásní, které jsou zarudlé a prosáklé. Bolestivost je ale zpravidla jen minimální.

Z hlediska výskytu mikrobů je opět nutno vzít v úvahu časový faktor. Ze začátku se v zánětu nacházejí spíše aerobní (respektive fakultativně anaerobní) bakterie. Po týdnu trvání již ale roste počet kapnofilních a striktně anaerobních mikrobů (kapnocytofág, aktinomycet a anaerobních gramnegativních tyčinek). Počet mikrobů se dále zvyšuje a převládají anaeroby (v černých koloniích rostoucí např. *Porphyromonas gingivalis* a *Prevotella intermedia*, ústní spirochéty). Krvácení z dásní přispívá k množení černě pigmentovaných anaerobních tyčinek, kterým krev slouží jako zdroj heminu, který potřebují pro svůj růst.

13.2.3 Změny v parodontálním chobotu při rozvoji gingivitidy

Při rozvoji marginální gingivitidy a rozvoji parodontitidy dochází k určitým typickým změnám:

- Redoxní potenciál **klesá**
- Tvorba chobotové tekutiny **roste** (chobotová tekutina představuje živné médium pro růst anaerobů vybavených proteolytickými enzymy, proteinové složky jsou štěpeny proteolytickými bakteriemi)
- pH **roste** – z normálních neutrálních hodnot stoupá na 7,4 – 7,8, což podporuje růst určitých bakterií (hlavně se to týká gramnegativní anaerobní tyčinky *Porphyromonas gingivalis*)
- Množství mikrobů **stoupá**. Vyskytují se především gramnegativní anaerobní tyčinky, konkrétně zejména *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga sputigena* a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Z dalších bakterií pak zejména spirocheta *Treponema denticola*.

13.2.4 Rozvinutá parodontitida

Parodontitida (mezi laiky známá spíše jako parodontóza nebo paradentóza) **patří mezi vůbec nejčastější lidská onemocnění**. Různé studie uvádějí, že až 80 % dospělých nějakou formou tohoto onemocnění trpí.

Parodontitida je vlastně záněť závěsného aparátu zubu. Její součástí je záněť dásní s ústupem spojení mezi zubem a dásní (tzv. dentogingiválního spojení). Dochází k odbourávání kostní tkáně, která zub obklopuje. Podle toho, z kolika stran ještě kost zůstala, se rozlišuje **míra resorpce kosti** – trojstěnný defekt (chybí jen jedna) strana, dvojestěnný, jedностěnný a cirkulární (je resorbována kost kolem celého zubu). U zubů s více kořeny (stoličky) se také resorbuje **kost mezi kořeny** a objevují se mezi nimi dutiny (podle hloubky se označují jako F1 až F3). Na místě dásňových sulků vzniká tzv. **pravý parodontální chobot**, krvácivý, s hnisavým obsahem. Na obnaženém povrchu krčku se usazuje zubní plak a později zubní kámen. Zuby se začínají viklat a posouvat.

O tom, že na parodontitidu má **významný vliv přítomnost subgingiválního plaku** svědčí výzkumné studie, které ukazují vztah mezi rozsahem plaku a výskytem i závažností parodontálních onemocnění. Studie na dobrovolnících ukázaly, že při zanechání péče o chrup následuje nárůst plaku a gingivitida, která po odstranění plaku (pokud nebyl ponechán příliš dlouho) zmizí. Také na modelech zvířat chovaných bez mikrobů bylo prokázáno, že zejména některé druhy bakterií jsou schopny navodit onemocnění parodontu a zánětlivou resorpci kostí. Kromě mechanického odstranění plaku pomáhá také místní aplikace např. chlorhexidinu.

13.2.5 Mikrobiální původ parodontitidy

Ačkoli je ústní dutina dobře přístupná, vzhledem k přítomnosti velkého množství druhů mikrobů, často obtížně kultivovatelných, stále není jasné, jak přesně parodontitida vzniká. Názory na její vznik se dají v zásadě rozdělit na tři hlavní hypotézy:

- specifická plaková hypotéza
- nespecifická plaková hypotéza
- ekologická plaková hypotéza

13.2.5.1 Specifická plaková hypotéza

Tato hypotéza spočívá v představě, že na vzniku zubního plaku a parodontitidy **se podílejí určité konkrétní druhy mikrobů**. Tato hypotéza je pravděpodobně platná při určitých poměrně speciálních typech zánětu dásní. Příkladem je tzv. **nekrotizující ulcerativní gingivitida**, kde jsou klíčovými původci fusobakterie a spirochety. O tom, že v tomto případě lze považovat anaeroby za původce svědčí i to, že podání antibiotik s působením proti anaerobům (například metronidazol) má dobrý léčebný efekt. Jiným příkladem je takzvaná **rychle progredující juvenilní parodontitida**, kde byl jako zřejmý původce zachycen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Tato bakterie je citlivá na tetracyklin, a jeho podání skutečně vede k rychlému zvládnutí onemocnění. Nicméně se zdá, že u většiny parodontálních onemocnění tato hypotéza spíše selhává.

13.2.5.2 Nespecifická plaková hypotéza

Podle této hypotézy není důležité, které mikroby jsou v plaku přítomny, ale **důležitá je jejich kvantita**. Znamená to, že jen velké bakteriální společenství vyvolá koncentraci všech faktorů virulence nutných k destrukci tkání. Podle této hypotézy případné výkyvy v nálezu té či oné bakterie nemají význam a bakterie, které se nově objevily, jen nahrazují jiné, které náhodou ve společenství nejsou přítomny. Plak šířící se pod úroveň gingivy způsobí onemocnění vždy, bez ohledu na složení

Tuto hypotézu podporují nálezy různých bakteriálních druhů v parodontálních chobotech, přesto ani ona není schopna uspokojivě popsat procesy, ke kterým při parodontitidě dochází.

13.2.5.3 Ekologická plaková hypotéza

Tato hypotéza **chápe mikrobiální dutinu ústní především jako ekosystém**. Parodontitida je podle ní endogenní infekce vyvolaná oportunními druhy – takovými, které byly již dříve přítomny a neškodily, ale nyní využily situace a přemnožily se. Jde tedy o změnu v poměrech jednotlivých bakterií. Tato hypotéza vysvětluje, že zvýšená produkce tkáňové tekutiny přináší do sulku zvýšené množství bílkovin, které jsou snadno katabolizovány proteolytickými gramnegativními anaerobními tyčinkami. To znamená **změnu v zastoupení jednotlivých bakteriálních druhů**. Roste počet těchto gramnegativních anaerobních tyčinek (porfyromonád a dalších) na úkor fakultativně anaerobních grampozitivních druhů (především streptokoků). Protože pomnožené bakterie nyní produkují faktory virulence v dostatečném množství, překonají i obranu hostitele a dochází k destrukci.

13.2.5.4 Vliv použité plakové hypotézy na strategii léčby

Je poměrně logické, že podle toho, kterou plakovou hypotézu považujeme pro daný případ za relevantní, bude se lišit i náš přístup k vhodné léčbě.

- **Specifická plaková hypotéza** znamená, že léčba by měla být zaměřena na odstranění specifického patogena, např. podáváním antibiotik

- **Nespecifická i ekologická hypotéza** v podstatě znamená, že parodontální onemocnění lze úspěšně léčit zásahy namířenými na redukci rozsahu plaku

13.2.6 Prevence parodontitid

Nejdůležitější prevencí je soustavné odstraňování zubního plaku **pravidelným a správným čištěním zubů**. Je ale vhodné doplnit je dokonalým **odstraněním zubního kamene**. V některých případech také pomůže úprava vedlejších (exogenních) faktorů – vadné protetické náhrady, převislé výplně a podobně.

13.2.7 Speciální typy parodontitid a gingivitid

Existují některé situace, které se liší od obecného popisu parodontitid a jejich vzniku. Jsou to zejména tyto:

- **Agresivní parodontitidy**
 - Rychle progredující parodontitida
 - Lokalizovaná juvenilní parodontitida
 - Prepubertální parodontitida
- Parodontitida a gingivitida **u infekce HIV**
- Gingivitida **u těhotných**
- Onemocnění parodontu **při cukrovce**

13.2.7.1 Rychle progredující parodontitida

Tato forma se vyskytuje častěji u mladých žen. Její součástí je rozsáhlá ztráta kostní tkáně s resorpcí kořenů, důsledkem je předčasná ztráta zubů. Z mikrobiologického hlediska je nápadná vysoká koncentrace ústních spirochét v dásňových chobotech spolu s relativně patogenními gramnegativními tyčinkami (porfyromonádami, prevotelami a aktinobacily).

13.2.7.2 Lokalizovaná juvenilní parodontitida

U nás je tato forma vzácná, začíná kolem puberty. Postiženy jsou řezáky a první stoličky. Typická je značná bolestivost, viklavost a putování zubů. To všechno kontrastuje s poměrně málo vyznačenými zánětlivými příznaky. Za specifické infekční agens tohoto onemocnění se pokládá mikroaerofilní až kapnofilní *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* v tkáňových chobotech, lze ho izolovat za zvýšené tenze CO₂ na obohacených selektivních půdách (se sérem a s vankomycinem). Léčba tetracyklinem vede k jeho eliminaci a k ústupu onemocnění. U systémových poruch imunity se setkáváme i s generalizovanou formou

13.2.7.3 Prepubertální parodontitida

Tato forma vzniká na podkladě dědičného defektu leukocytů. Vyskytuje se v lokalizované i generalizované formě. U bělochů je toto onemocnění vzácné. V parodontálních chobotech nalézáme četné gramnegativní anaeroby vyrůstající v černých koloniích.

13.2.7.4 Parodontitida a gingivitida u infekce HIV

Vzhledem k postižení buněčné imunity se záněty parodontu u HIV pozitivních projevuje jinak než u HIV negativních. Zpravidla probíhá jako krvácivá a bolestivá atypická gingivitida a generalizovaná parodontitida. Z mikrobu bývá nalézán *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* a *Porphyromonas gingivalis*. Z kvasinek nalézáme nejčastěji *Candida albicans*. Vzhledem k výrazné tendenci ke krvácení jsou dentální výkony u těchto nemocných poměrně rizikové

13.2.7.5 Gingivitida u těhotných a při jiných hormonálních vlivech

Výrazná gingivitida je někdy pozorovaná u těhotných, ale také po orální steroidní antikoncepci. Vysvětluje se přítomností steroidních hormonů v sulkární tekutině, což posiluje množení bakterií druhu *Prevotella intermedia*.

13.2.7.6 Onemocnění parodontu při cukrovce

Zvláště mladší pacienti s málo kompenzovaným diabetes mellitus trpí hůře probíhajícími záchvaty parodontálního onemocnění. V postižených místech se kromě vyššího počtu kapnocytofág a dalších parodontálních patogenů nacházejí i jiné bakterie, např. zlaté stafylokoky.

13.2.8 Parodontální absces

Může vzniknout jako komplikace parodontitidy. Typická je retence hnisavého exsudátu v parodontálním chobotu. Dáseň nad ním je zarudlá a oteklá, mohou být zduřelé regionální mízní uzliny a zvýšená teplota. Typická endogenní polymikrobiální infekce je vyvolaná mikroby v subgingiválním plaku. Podílejí se na ní zejména anaerobní gramnegativní tyčinky – porfyromonády, prevotely a fusobakteria, grampozitivní koky – anaerobní peptostreptokoky, ústní alfa-hemolytické streptokoky, treponemy, kapnocytofágy a aktinomycety. V rámci léčby je nutno ložisko naříznout, zavedením drénu podpořit odtok hnisu a případně i zub odstranit. Při horečce nebo jiných komplikacích se podávají antimikrobiální látky (penicilin, erythromycin, metronidazol).

13.2.9 Nekrotizující ulcerativní gingivitida

Akutní nekrotizující ulcerativní gingivitida (ANUG) je onemocnění spojené se špatnou ústní hygienou a podvýživou. V rámci terapie je nutno odstranit postiženou tkáň, dbát o ústní hygienu, lokálně se provádějí výplachy chlorhexidinem a celkově metronidazol. Původ je polymikrobiální. Pro souhrnné označení mikrobů, které nemoc způsobují, se používá pojem „Plautova-Vincentova fusospirochetální flóra“. Zahrnuje gramnegativní anaerobní tyčinky *Fusobacterium nucleatum* a *Prevotella intermedia* a ústní spirochety rodu *Treponema*, zejména druh *Treponema denticola*. K diagnóze je třeba mikroskopicky prokázat kromě příslušných bakterií i přítomnost leukocytů.

13.2.9.1 Noma

Noma (cancrum oris) je extrémně závažná forma ANUG. Postihuje podvyživené africké děti s imunitou podlomenou po prodělání např. spalniček. V Evropě se vyskytovala v minulosti, například v koncentračních táborech. Nyní se vyskytuje při nedostatku určitých typů bílých krvinek. Počáteční nekrotické léze se šíří z dásní na tváře, vzniká nekrotizující stomatitida s rozsáhlou ztrátou tkání vedoucí až k znetvoření (noma faciei). Mikrobiologicky jde opět o infekci oslabeného terénu Plautovou-Vincentovou fusospirochetální flórou

13.3 Klíčové patogeny

Při posuzování zubního kazu a parodontitidy se nevyhneme potřebě nějak se postavit k významu jednotlivých bakterií v rámci ústní mikroflóry. Úhel pohledu na ústní biofilm přitom může být různý – od zaměření na jednotlivé kmeny či druhy až na pohled na biofilm jako celkové společenství.

13.3.1 Krvácivost jako odraz mikroflóry

Ekologická plaková hypotéza předpokládá, že některé druhy bakterií, i když jsou přítomny i u zdravých jedinců, mohou mít podíl na vzniku parodontitidy při přemnožení. Z tohoto pohledu rozdělil dr. Socransky jednotlivé složky ústní mikroflóry na „komplexy“, označené barvami. Za nejrizikovější se považují bakterie červeného komplexu – red complex. Patří sem gramnegativní anaerobní tyčinky *Porphyromonas gingivalis* a *Tannerella forsythia* a spirocheta *Treponema denticola*.

Co předurčuje bakterie „red complex“ k podílu na parodontitidách? Jsou to především

- faktory virulence
- schopnost bakterií shlukovat se
- vzájemné vztahy mezi bakteriemi

13.3.1.1 *Treponema denticola* – vlastnosti

Treponema denticola je spirocheta (příbuzná *T. pallium*, která způsobuje syfilis). Je silně proteolytická. Kolonizuje až starší děti (ve věku 6 – 12 let je kolonizováno asi 50 %, ale tento druh

tvoří jen asi 0,5 % mikrob. populace) a dospělé. Schopnost společného shlukování (koagregace) má jen s některými bakteriemi, jako jsou fusobakteria a porphyromonády. Má úzký vztah k *Porphyromonas gingivalis*. V roce 1998 se podařilo zjistit kompletní genetickou sekvenci této bakterie, a díky tomu už jsou známy i mnohé faktory virulence. Mezi ty hlavní patří

- **Pohyblivost** – v experimentu průchod břišní stěnou myši
- **Spouštěče zánětu** – navozuje sekreci prozánětlivých cytokinů a chemokinů, včetně **chemotaxe** (schopnost pronikat do místa zánětu, v tomto případě do sulkární tekutiny)
- **Adheziny** – schopnost přilnout ve specifickém místě dásně
- **Invaziny** – bílkovina zvaná leucine-rich repeat protein (LrrA)
- **Ekvivalent lipopolysacharidů gramnegativních bakterií** – únik před imunitou, odbourávání kosti (bičinky)
- **Proteázy** – degradace bariér, buněk a protektivních makromolekul
- **Hemolyziny** – získá železa pro metabolismus

13.3.1.2 *Porphyromonas gingivalis* – vlastnosti

Tato bakterie je vysoce proteolytická. Má fimbrie, které jí slouží k přilnutí na povrchy a jejich osidlování. Uvolňuje měchýřky obsahující kompletní složky zevní membrány – proteiny, lipopolysacharid, kyselinu muramovou, pouzdro a fimbrie. Měchýřky umožňují transport toxinů a enzymů, adhezenci a agregaci bakterií i shlukování destiček. Typická je černá pigmentace díky akumulovanému heminu. To je pro bakterii zdroj železa (růstový faktor)

13.3.1.3 *Tannerella forsythia* – vlastnosti

Přilnutí a invaze *T. forsythia* závisí na proteinu zevní membrány BspA. Důležité jsou vztahy mezi *T. forsythia* a *P. gingivalis*. Membránové měchýřky porphyromonád podporují přilnutí na hostitelské buňky a invazi do nich. Epitelie s bakteriemi, které do nich vnikly, jsou potenciálně nebezpečné pro návrat infekce.

13.3.1.4 Interakce mikroorganismů skupiny „red complex“

Bakterie této skupiny si navzájem mohou dodávat

živiny – jde o takzvaný „crossfeeding“ – *P. gingivalis* metabolizuje kyselinu jantarovou, produkovanou *T. denticola*, a poskytuje jí kyselinu isobutyrovou, nebo kompetitivní výhoda proteolytických mikroorganismů – rychleji osidlují sulcus gingivalis

produkty metabolismu – *P. gingivalis* citlivá na pokles pH a na O₂ je chráněna produkty *Fusobacterium nucleatum*

bakteriociny – přirozená antibiotika, kompetice s blízkými příbuznými mikroorganismy, např. *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*.

13.3.1.5 Citlivost k fagocytóze

Citlivost orálních bakterií k fagocytóze se liší. Závisí spíše na druhu mikroorganismu, než na kmeni. Platí, že *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a bakterie red-complex jsou rezistentnější k fagocytóze než bakterie, které nemají vztah k onemocněním parodontu. Únik před imunitní odpovědí může být jedním z faktorů patogenity některých periodontopatogenních bakterií

13.3.1.6 Důsledky interakce mikrobů

Důsledky interakce mikrobů jsou různé. Ovlivněna je například **lokalizace rezidentní flóry** – distribuce není náhodná. Dalším důsledkem je **koagregace** (společné shlukování různých druhů) a jejich lokalizace v biofilmu – např. *Treponema denticola* je vázaná na *Porphyromonas gingivalis* (schopná adherovat na inertní povrchy), *Tannerella forsythia* zase na *Fusobacterium nucleatum*. Jiným důsledkem může být také **rezistence na antibiotika**, která se může pomocí plasmidů přenést i na jiné bakterie (například bakterie dočasně v ústech přítomné). Možné jsou i **genetické výměny** mezi rezidenty – takto se vyměňují například ostrůvky patogenity bakterie *Porphyromonas gingivalis*. Vzájemné vztahy mezi bakteriemi modulují i tvorbu **faktorů virulence** pomocí procesu quorum sensing, tedy vzájemná informovanost bakterií v biofilmu mediátory.

13.3.1.7 Účast bakterií z parodontitidy na systémových onemocněních

Parodontitida má vztah ke vzniku některých systémových chorob, tedy chorob lokalizovaných mimo ústní dutinu. Může se to týkat **kardiovaskulárních chorob** v souvislosti s bakteriální endokarditidou, aterosklerózy (zejména koronárních cév), **cévních mozkových příhod, pneumonií** či **cukrovky**. Parodontitida ale podle současných zjištění může ovlivňovat i **předčasný porod** a nízkou porodní váhu nebo i nemoci, u kterých se to na první pohled jeví jako nepravděpodobné, například karcinom jícnu.

Jaké jsou mechanismy těchto procesů? **Mikroby z úst** pronikají do krevního řečiště (jde o metastatickou infekci, například po extrakci zubů). **Bakteriální enzymy a toxiny** z parodontických ložisek mohou také cestovat mimo dutinu ústní a vyvolávat metastatické poškození. Týká se to například endotoxin gramnegativních bakterií ze subgingiválního biofilmu. A konečně mohou do krve pronikat také **antigeny ústních bakterií** a prozánětlivé cytokiny ze zaníceného parodontu. Tím vzniká metastatický zánět – v místě usazení antigenů s protilátkami vznikají imunitní komplexy.

Téma 14 Ústní projevy nálezů, které nejsou omezeny na ústní dutinu. Infekce lokalizované v okolí ústní dutiny

14.1 Virózy v dutině ústní

Z virových původců můžeme v ústech nalézat zástupce čeledi *Herpesviridae*, dále coxsackieviry, papillomaviry, virus spalniček a virus příušnic (z čeledi *Paramyxoviridae*).

14.1.1 Infekce virem herpes simplex (HSV)

Jak již bylo řečeno kapitole 4, tento virus má **dva typy**, z nichž první má vazbu na ústní dutinu a rty, druhý spíše na genitálie. Je ale potřeba zdůraznit, že primární infekce v ústní dutině mohou způsobovat oba typy viru. Latentní přežívání viru v gangliích a následná rekurentní infekce se ale v orální oblasti týká většinou jen typu HSV1 (a v genitální oblasti HSV2).

Primární infekce mohou u malých dětí probíhat i bezpříznakově. U starších dětí probíhá primární infekce většinou jako gingivostomatitida: na jazyku, patře a dásních se objeví několik milimetrů velké puchýřky, které rychle praskají a mění se v mělké vřidky. Dásně jsou při tomto onemocnění rudé, oteklé a bolestivé. **Latentní fáze** spočívá v tom, že virus přežívá v gangliích sensorických nervů, zatímco pacient nepocítuje žádné potíže. **Sekundární infekce** je pak klasický opar rtu – herpes labialis. Spouštěcím mechanismem může být například respirační viróza nebo větší psychická zátěž. V **léčbě** se používá acyklovir (HERPESIN, ZOVIRAX). V rámci **diagnostiky** se posílají do laboratoře stěry z lézí, zanořené do speciálního virologického transportního média. Laboratoř pak provede průkaz antigenu pomocí imunofluorescence. Možný je i průkaz protilátek. Daleko častěji si ale nemoc diagnostikuje podle klinických příznaků bez nutnosti laboratorní diagnostiky.

14.1.2 Infekce způsobené virem varicelly-zosteru (VZV)

Primární infekcí jsou v tomto případě plané neštovice. Před výsevem neštovic, tedy typické kožní vyrážky, často můžeme pozorovat na tvrdém patře, na patrových obloučcích a na čípku rychle praskající malé vřidky obklopeném erytémem. **Latence** i zde probíhá v periferních nervech. Ústní projevy má i **sekundární infekce**, tedy pásový opar. Přítomna bývá lokalizovaná bolest napodobující bolest zubů, enantém jednostranný a nepřesahuje střední čáru

14.1.3 Ostatní virová onemocnění s projevy v ústní dutině

Virus Epstein-Barré (EBV) je původcem infekční mononukleózy. Při tomto onemocnění se vyskytují drobné petechie na rozhraní tvrdého a měkkého patra – Holzelovo znamení, později

faryngitida až pseudomembranosní tonsilitida, výrazná krční lymfadenitida. Nápadný otok celého Waldeyerova lymfatického okruhu někdy až znemožňuje dýchání. Při kombinaci infekční mononukleózy s virem HIV se vyskytuje specifické EB-virové postižení – nebolestivé bělavé zvrásnělé skvrny na okrajích jazyka, tzv. vlasatá leukoplakie.

Infekce **lidským herpesvirem 6** (HHV-6) se projevuje jako dětská nemoc s vyrážkou, zvaná exanthema subitum neboli roseola infantum (šestá exantematická choroba). Virus je přítomen ve slinách, v dutině ústní lze pozorovat na měkkém patře a čípku erytematosní papuly (Nagayamovy skvrny)

Coxsackievirové infekce se projevují jako tzv. „herpangina“. Název toto onemocnění dostalo podle vzhledu ulcerativních lézí na sliznici tonzil, měkkého patra a čípku – podobají se herpetickým. Léze jsou poměrně drobné, v průměru 1–2 mm, s šedobílým povrchem, obklopené červeným dvorcem.

Některé **coxsackieviry i další enteroviry** se projevují takzvanou „hand-foot-mouth disease“ – nemoc postihuje dlaně, plosky nohou a ústa. V ústech se pozorují živě červené skvrny, z nichž v ústech vznikají oválné šedivé puchýřky, červeně ohraničené.

Projevy v ústní dutině mívá i **morbillivirus**, respektive jím způsobená nemoc, tedy spalničky (morbilli). V prodromálním období se v dutině ústní objevují takzvané Koplikovy skvrny – jasné bílé droboučké skvrny obklopené tmavorudým okrajem na bukální sliznici proti molárům.

14.1.4 Změny v dutině ústní při infekci HIV

Mezi první projevy infekce HIV často patří ústní mykotická infekce, většinou ústní kandidóza (soor). Pro pacienty s AIDS jsou ale typické i jiné choroby, například virové: EB-virová vlasatá leukoplakie, Kaposiho sarkom spolupůsobený virem HHV8, herpetická gingivostomatitida a ústní papilomy. Z bakteriálních infekcí se objevuje gingivitida (lineární marginální erytém nebo ulcerózní gingivitida), nekrotizující stomatitida) a nekrotizující ulcerózní parodontitida.

14.2 Mykotické infekce v dutině ústní

14.2.1 Orální kandidóza

Nejčastějším původcem je *Candida albicans*. Je to oportunní patogen za lokálního nebo celkového **narušení obranyschopnosti**. Nemusí jít vždy o poruchu imunity v užším slova smyslu. Vliv má například i macerace kůže, vliv snímatelné zubní náhrady, špatná výživa či diabetes mellitus. Z poruch bílé krevní řady to může být například agranulocytóza (nedostatek jednoho typu bílých krvinek, tzv. granulocytů), ale také leukémie. Kandidóza může také doprovázet stavy po rozsáhlých chirurgických zákrocích, AIDS, léčbu imunosupresivou, cytostatiky, tzv. biologiky (monoklonálními protilátkami) či širokospektrými antibiotiky.

Lehčí formy se **léčí** lokálními antifungálními léky (např. klotrimazol), těžší systémovými antimykotiky (hlavně flukonazol, itraconazol nebo amfotericin B). Zkoušejí se také autovakcíny.

14.2.1.1 Formy mykotické infekce

Pseudomembranózní kandidóza – moučnivka (soor) je nejčastější. Mezi projevy patří skvrnitě zarudlá ústní sliznice a smetanově bílé pablány. Vyskytuje se u novorozenců, u starých osob, ale také u imunokompromitovaných nemocných, kde často probíhá chronicky. Zejména při AIDS její ložiska mohou přecházet až do jícnu.

Erytematózní (atrofická) kandidóza se vyskytuje v akutní formě jako následek dysmikrobie dutiny ústní při léčbě širokospektrými antibiotiky. Sliznice ústní dutiny je zarudlá, vyskytuje se pocit pálení v ústech.

Velmi častá **chronická forma** se objevuje jako tzv. protetická stomatitida – vyvolávají ji snímatelné zubní náhrady, zvláště protézni lože, tedy tvrdé patro a jazyk. Na sliznici je zřejmé zarudnutí a otok. V prevenci zpravidla stačí snímat protézu na noc a pečlivě ji mechanicky očišťovat a dezinfikovat

Při **hyperplastické kandidóze** probíhá kandidová leukoplakie chronicky ve formě ohraničených vyvýšených tuhých plaků, obvykle na vnitřní straně tváří. Tato choroba se považuje za prekancerózu.

Angulární kandidóza postihuje ústní koutky nebo provází jiné formy, zvláště protetickou stomatitidu. Příčinou bývá únik slin při výškově nevyhovujících protézách.

14.3 Bakteriální infekce v dutině ústní

14.3.1 Příjice (lues, syphilis)

Syphilis (příjice, lues) je nemoc způsobená spirochetou *Treponema pallidum*. **Ústní projevy** se týkají především tzv. pozdní vrozené syphilis. Mezi typické změny patří na stálém chrupu patří tzv.

Hutchinsonovy zuby. Takto se označují soudkovité řezáky se srpkovitě vykrojenou skusovou plochou. Mimo to se popisují také tzv. Fournierovy zuby – povrch žvýkací plochy prvních stálých stoliček bývá málo vyvinutý: hrubý, žlutavý, se špatně vyvinutými jamkami, připomíná povrch moruše. Moonův molár je v důsledku hypoplastických změn v oblasti hrbolků žvýkací plochy změněný první stolička s korunkou tvaru poupěte.

14.3.2 Kapavka (gonorrhoea)

Kapavku způsobuje *Neisseria gonorrhoeae* – gonokok. Přítomnost této bakterie v ústní dutině a krku může být **bezpříznaková**, možná je ale také **tonzilitida a faryngitida**. Pro **diagnostiku** je důležité si uvědomit, že bakterii sice lze kultivovat, ale pouze na obohacených půdách. Proto nemůže být odhalena při běžné kultivaci výtěru z krku či ústní dutiny, ale je nutné, aby žádanka obsahovala požadavek kultivace na kapavku.

14.3.3 Spála (scarlatina)

Spálu způsobuje bakterie *Streptococcus pyogenes*, avšak pouze kmeny, které tvoří **erytrogenní toxin**, odpovídající za vyrážku (není-li toxin přítomen, vzniká pouze tonsilitida – angína). Při spále je typická kožní vyrážka (exantém) ve formě splývajících světle červené skvrny. Tato vyrážka vynechává periorální oblast. Zato se přímo na sliznici měkkého patra včetně oblouků a čípku objevuje splývající, **šarlatově rudý enantém** (slizniční obdoba exantému). Jazyk bývá bíle povleklý, jinak sytě červený s nápadně vystouplými papilami – takzvaný malinový jazyk (označení nevyplývá jen z barvy, ale i tvaru), podčelistní mízní uzliny jsou zvětšené a bolestivé.

Lékem volby je penicilin

14.3.4 Záškrt (diphtheria)

Původcem záškrtu je *Corynebacterium diphtheriae*. Záškrt se projevuje jako **pablánová (pseudomembranózní) tonzilitida**, případně laryngitida (croup). Pablány se mohou šířit na měkké patro, výjimečně i na sliznici tváří. Při této těžké formě jsou výrazně zvětšeny uzliny a bývá oteklý krk – označuje se jako collum caesari („císařský krk“).

14.4 Infekce v okolí ústní dutiny

14.4.1 Virové infekce slinných žláz

14.4.1.1 Příušnice

Nejklasičtější virovou infekcí slinných žláz (virovou sialoadenitidou) je bezesporu **parotitis epidemica** – příušnice. Virus parotitidy (čeleď *Paramyxoviridae*, rod Rubulavirus) se množí v buňkách vývodů příušních slinných žláz. Choroba se projevuje bolestí při žvýkání, zarudnutím vývodu žlázy, jejím zvětšením a snížením sekrece slin. Virus může pronikat i do centrálního nervového systému. V tom případě vyvolává nehnisavý zánět mozkových blan, většinou ale bezpříznakový. Virus může napadnout také pohlavní orgány (vyskytuje se zánět varlat po pubertě – je bolestivý a jako následek se může vyskytnout i sterilita), slinivku břišní (zvýší se hladina amylasy), mléčnou žlázu a ledviny.

Pokud nestačí klinická diagnostika, je možná i **diagnostika laboratorní**. Ta spočívá ve vypěstování viru ze slin, průkaz čtyřnásobného vzestupu titru protilátek. Důležitá je **prevence** očkováním.

14.4.1.2 Ostatní virové infekce

Také při reaktivaci latentní **cytomegalovirové infekce** se často vyskytuje zánět slinné (týká se to zejména pacientů s AIDS, imunosupresí, případně léčbou cytostatiky)

Infekce HIV se u malé části osob může projevovat xerostomií (suchostí úst) a zduřením příslušné žlázy. K tomu se zpravidla vyskytují i další příznaky tzv. Sjögrenova syndromu: suchá keratokonjunktivitida (zánět rohovky a spojivky) a progresivní polyartritida (zánět kloubů).

14.4.2 Bakteriální infekce slinných žláz

Nejen viry, ale i bakterie mohou napadat slinné žlázy. Choroba se projevuje jako **akutní hnisavá parotitis** (sialoadenitis suppurativa acuta) a jde o velmi bolestivý, abscedující zánět. Příčinou jsou viridující streptokoky, *Staphylococcus aureus*, hemofily, eikenely, peptostreptokoky. Po nitrobřišních operacích někdy akutní pooperační parotitida, zpočátku serózní, později abscedující.

14.4.3 Některé další infekce v okolí ústní dutiny

14.4.3.1 Ludwigova angína

Jde o **oboustrannou infekci podjazykových a podčelistních prostor** s tendencí k šíření. Nejčastější příčinou jsou komenzální bakterie původem z ústní dutiny (hlavně gramnegativní anaerobní tyčinky). S těmi je také potřeba počítat při mikrobiologickém vyšetření.

14.4.3.2 Osteomyelitis purulenta mandibulae et maxillae

Hnisavý zánět kostní dřene horní či dolní čelisti probíhá podobně jako jiné osteomyelitidy, navíc může docházet ke ztrátám zubů. Na rozdíl od jiných osteomyelitid se tu ale méně často jako původci vyskytují stafylokoky, daleko častější je, že infekce mají původ přímo v ústní dutině.

14.4.3.3 Aktinomykóza tváře a krku

Toto onemocnění má rovněž často původ v ústní dutině. V měkkých tkání v okolí ústní dutiny se nachází ložisko tuhého hnisu. Někdy se píštělemi otevírá na povrch těla.

Určeno pro interní potřebu studentů oboru Dentální hygienistka ve školním roce 2012/2013. Další šíření je možné jen se souhlasem autora.

V textu je využito pasáží ze skript „M. Votava, P. Ondrovčík: Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie, z přednášek prof. MUDr. Miroslava Votavy, CSc., pro studenty všeobecného lékařství, a z přednášek doc. MUDr. Vladany Woznicové, PhD., pro studenty zubního lékařství.