

Ondřej Zahradníček: Mikroby lidského těla

Skripta k předmětu RV2BP_MIKR

Obsah

Téma 1 Mikroby lidského těla, přehled mikrobů, význam běžné flóry, patogenita a virulence, přehled metod, přehled významných bakterií (strana 2)

- 1.1 Mikroby lidského těla
- 1.2 Jednotlivé skupiny mikrobů – obecný přehled a možnosti rozdělení
- 1.3 Normální mikroflóra a její význam
- 1.4 Patogenita a virulence
- 1.5 Průběh infekčního procesu a faktory, které se na něm podílejí
- 1.6 Rozdělení bakterií
- 1.7 Přehled klinicky nejvýznamnějších bakterií
- 1.8 Přehled mikrobiologických vyšetřovacích metod
- 1.9 Metody přímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

Téma 2 Mikroorganismy a protilátková odpověď, nepřímý průkaz mikroorganismů pomocí stanovení protilátek, vztah mikrobiologie a imunologie, význam očkování a pasivní imunizace. (strana 18)

- 2.0 Úvod
- 2.1 Anatomické bariéry a fyziologické mechanismy
- 2.2 Nespecifická imunita
- 2.3 Specifická imunita
- 2.4 Imunoterapie (léčení imunopreparáty)
- 2.5 Metody nepřímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

Téma 3 Metody boje s mikroorganismy. Dekontaminační metody, antimikrobiální látky. Rezistence na antibiotika, její příčiny a možnosti, co proti ní dělat. Strašáci moderní doby: MRSA a ti druzí. Přehled metod testování citlivosti na antimikrobiální látky. (strana 29)

- 3.1 Mikroby a prostředí, chování mikrobů při změnách jednotlivých faktorů v prostředí
- 3.2 Zásady praktického použití dekontaminačních metod
- 3.3 Přehled nejdůležitějších dekontaminačních metod
- 3.4 Antimikrobiální látky – úvod
- 3.5 Peniciliny, cefalosporiny, glykopeptidy a chinolony (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)
- 3.6 Aminoglykosidy, makrolidy, tetracykliny, linkosamidy a chloramfenikol (mechanismy účinku, nežádoucí účinky, příklady)
- 3.7 Primární a sekundární rezistence mikrobů, ESBL, MRSA, VRE a jejich význam. Antibiotická střediska
- 3.8 Testy citlivosti na antibakteriální látky

Téma 4 Přehled nejvýznamnějších virů, hub a parazitů v lidském těle (strana 41)

- 4.1 Rozdělení virů
- 4.2 Přehled klinicky nejvýznamnějších virů
- 4.3 Původci mykóz, vyšetřovací metody v mykologii
- 4.4 Paraziti a jejich vyšetřování

Téma 1 Mikroby lidského těla, přehled mikrobů, význam běžné flóry, patogenita a virulence, přehled metod, přehled významných bakterií

1.1 Mikroby lidského těla

Ve výuce biologie na základních a středních školách se věnuje většinou hodně pozornosti botanice, zoologii, a pokud jde o lidské tělo, pak především přehledu jednotlivých orgánů a orgánových soustav. Z **mikrobů** se nejvíce pozornosti často dostává trepkám a krásnoočkům. Nic proti nim, jsou to zajímavé organismy, ale je škoda, že poměrně málo se žáci a studenti dozvědí o živých organismech, které se vyskytují přímo **v jejich těle**, ať už v roli normálního osídlení, náhodných nálezů či škodlivých patogenů.

Všude kolem nás se vyskytují **mikroby**. Věda, která se jimi zabývá, se nazývá **mikrobiologie**.

Také v lidském těle se vyskytují **klinicky významné mikroby**. Věda, která se jimi zabývá, se nazývá **klinická mikrobiologie**. Je to obor, který lze považovat za jednu z aplikací mikrobiologie, anebo za přechodný obor mezi mikrobiologií a lékařstvím.

Proč vlastně patří věda o mikrobech lidského těla do **lékařských věd**? Vždyť zdaleka ne všechny mikroby, které v lidském těle nalézáme, se podílejí na vzniku nemocí! Ano, ale lékaři musí sledovat i ty „hodné“ mikroby. Především proto, že většina z nich se může „zvrhnout“, stát se z nich mikroby „zlé“. Ale také proto, že klinický mikrobiolog musí umět „zlé“ a „hodné“ mikroby vzájemně rozlišit. A pak ještě i proto, že pro poznání toho, jak „zlé“ mikroby napadají člověka, je potřeba znát i ty „hodné“, které jim v tom často brání.

1.2 Jednotlivé skupiny mikrobů – obecný přehled a možnosti rozdělení

Mikrobiologie se tedy 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 1.4.

V zásadě si můžeme definovat **pět skupin klinicky významných mikrobů**. Nebude to rozdělení kompletní – chybějí například bakteriím příbuzné sinice, která mohou mít také klinický význam (zejména z důvodu toxických a alergických účinků). Přesto toto rozdělení má svou logiku a má smysl se ho držet. V dalším textu bude pojednáno pouze o rozdělení bakterií a virů – priony nemá smysl dále klasifikovat a houbám a parazitům je věnováno Téma 14.

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)

1.3 Normální mikroflóra a její význam

Na různých místech lidského těla je přítomna tzv. normální (běžná) flóra či mikroflóra. Je tvořena komenzálními či saprofytickými mikroby, které jsou hostiteli více či méně prospěšné: kolonizací příslušné sliznice brání tomu, aby byla osídlena patogeny podílejí se na stavu mikroprostředí, např. pH ve střevě likvidují nestravitelné zbytky mohou mít i další pozitivní efekty pro hostitele (např. tvorba vitamínů střevními bakteriemi)

1.3.1 Kde mikroflóra je a kde není

Mikroflóra není ve tkáních, v parenchymu orgánů, v krvi, v mozku ani mozkomíšním moku. Zde je každý nalezený mikrob velmi pravděpodobně patogenem

Mikroflóra není ani v některých dutých orgánech, např. v jícnu, v plicích, v močovém měchýři (kromě starých osob) či v děloze

Mikroflóra je zejména v dutině ústní a hltanu, v tlustém (a zčásti i tenkém) střevě, v pochvě a v menším množství také na kůži

1.3.2 Mikroflóra v průběhu života člověka

Plod nemá žádnou běžnou flóru, po narození zvolna začíná osidlování

Během prvních měsíců a let života se běžná mikroflóra vyvíjí (zejména střevní v souvislosti se změnami potravy)

U žen se mění vaginální mikroflóra v důsledku hormonů při menarche, dále při začátku pohlavního života a pak v menopauze

U starších osob dochází k dalším změnám (např. se často ustanoví „běžná flóra“ v močovém měchýři, dříve sterilním)

1.3.3. Mikroflóra jako ekosystém

Kdysi lidé mysleli, že všechny škůdce úrody jednoduše zahubí například DDT. Ukázalo se ale, že takový brutální zásah často nadělá víc škody než užítku, zvlášť když se použije nevhodným způsobem

Podobně složitý ekosystém je i třeba střevní mikroflóra. I proto dnes na střevní infekce většinou nedoporučujeme antibiotika, protože systém „rozhodí“ často ještě víc.

1.3.4 Přehled běžné mikroflóry

1.3.4.1 Normální osídlení dýchacích cest a plic

Nosní dutina nemá specifickou flóru, přechází tam však mikroflóra z kůže (přední část) a hltanu (zadní část)

V hltanu (stejně jako v ústní dutině) nacházíme ústní streptokoky, neisserie, nevirulentní kmeny hemofilů aj. Mnohé další tam jsou, ale většinou je nevykultivujeme

Plíce a dolní dýchací cesty jsou normálně bez většího množství mikrobů

Na ostatních místech (hltanu) jsou různé přechody (hltanu – jako v hltanu, ale méně)

1.3.4.2 Normální osídlení trávicích cest

Rty znamenají přechod kožní a ústní flóry

V ústní dutině (stejně jako v hltanu) nacházíme ústní streptokoky, neisserie, nevirulentní kmeny hemofilů aj. Mnohé další tam jsou, ale většinou je nevykultivujeme

Jícen a žaludek jsou za normálních okolností bez většího množství mikrobů

V tenkém a zejména tlustém střevě nacházíme zpravidla asi 1 kg anaerobů, dále enterobakterie, enterokoky, kvasinky, někdy i nepatogenní améby

Řiť je opět místem přechodu střeva a kůže

Normální situace v ústní dutině je složitá. Ústní dutina je i za normální situace velice složitý ekosystém, složený z různých druhů bakterií, usazených materiálů, lidských buněk a dalších složek. Bakterie se v dutině ústní přitom nevyskytují v nějakém chaosu, ale v komplikovaném, strukturovaném útvaru, zvaném biofilm. V daném případě jde o vícedruhový strukturovaný biofilm, ve kterém např. anaeroby jsou přítomny ve větší hloubce než aerobní bakterie

1.3.4.3 Močové cesty zdravého člověka

Ledviny – normálně bez mikrobů

Pánvičky ledvinné – normálně bez mikrobů

Močovody (uretery) – normálně bez mikrobů

Močový měchýř mladých a středně starých osob – normálně bez mikrobů

Močový měchýř seniorů – i za normálních okolností může být osídlen mikroflórou, která nečiní problémy a stává se „běžnou flórou“

Močová trubice – normálně bez mikrobů, část přilehlá k ústí však může být osídlena zvenčí

1.3.4.4 Normální stav pohlavních orgánů

Za normálních poměrů nejsou mikroby

u ženy v děloze, vejcovodech, vaječnicích

u muže v prostatě, chámovodech, varlatech

Specifickou normální flóru má vagina (laktobacily, příměs různých aerobních i anaerobních mikrobů). Vulva tvoří přechod vaginální a kožní flóry. U muže je specifický předkožkový vak, vedle kožní flóry jsou tu i např. nepatogenní mykobakteria apod.

1.3.4.5 Normální osídlení kůže

Přestože kůže je pro mikroby nejdostupnější, je její osídlení mnohem chudší než v případě např. úst, pochvy či tlustého střeva. Mikrob, který chce žít na kůži, musí snášet vyschnutí a vysoké koncentrace solí. Na kůži se tedy normálně vyskytují

koaguláza negativní druhy stafylokoků

zlatý stafylokok – malé množství je normální

korynebakteria a příbuzné G+ tyčinky

malá množství kvasinek

1.3.5 Péče o střevní mikroflóru

V rekonvalescenci průjmů, ale i např. po celkové antimikrobiální terapii (kde mohlo dojít k vybití části mikroflóry) je vhodné snažit se o obnovu normálního stavu. Používají se jogurty (nesladké, netučné), kyselé zelí, různé preparáty (Hylac). Některé obsahují substráty pro „dobré“ bakterie, to jsou prebiotika. Některé obsahují přímo ty dobré bakterie, to jsou probiotika. Některé obsahují oboje, to jsou symbiotika

1.3.6 Péče o vaginální mikroflóru

Také vaginální ekosystém může být narušen antimikrobiální léčbou či nějakým onemocněním

Také zde doporučují „lidové receptury“ např. aplikaci jogurtu do pochvy. Jinak lze doporučit prebiotické či probiotické vaginální čípky. Důležitá je také výživa a úprava hormonálních hladin (antikoncepce).

1.4 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). Učitel 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.

1.4.1 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 (tedy lidské tělo).
- **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.

1.4.2 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) 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 (primární) 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 .

1.4.3 Faktory zodpovědné za virulenci, respektive patogenitu

1. Ty, které se podílejí na **kolonizaci hostitele**: řasinky (latinsky pili či fimbrie), bičík, různé další tzv. adheziny. Bičík umožňuje pohyblivost bakterií.
2. Ty, které 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:

- **Neurotoxiny**, které ovlivňují nervovou soustavu. Například tetanický toxin působí křeče, botulotoxin naopak obrny.
- **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 makroorganismu, různorodost antigenních variant (u chřipky) aj.

1.4.4 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).

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

1.5.1 Vstupní brána infekce

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

1.5.2 Forma infekce

1.5.2.1 Podle rozsahu poškození organismu:

lokální (omezená na jednu sliznici, tkáň orgán)

celková (systémová, celotělová)

1.5.2.2 Podle vyjádření příznaků:

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

1.5.2.2.2. **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 mikroblem. Může také dojít ke **koinfekci** dvěma různými mikroby.

1.5.3 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. Vylučování je důležité z hlediska posouzení nakažlivosti daného člověka. 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.

1.5.4 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.

1.5.5 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 organismus nenachází ve stavu celkového fyzického vyčerpání – toho zneužívají zejména 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.

1.6 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:

1.6.1 podle tvaru a uspořádání

- **koky** – kulovité, mohou tvořit dvojice, řetízky, shluky...
 - **koky ve dvojicích (diplokoky)** – například neisserie či *Streptococcus pneumoniae*
 - **koky ve shlucích** – např. stafylokoky
 - **koky v řetízcích** – 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

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

- **grampozitivní** – barví se modře (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.

1.6.3 podle vztahu ke kyslíku

- **striktně aerobní** (rostou pouze v přítomnosti kyslíku)
- **striktně anaerobní** (vyžadují atmosféru bez kyslíku; některé z nich opravdu hynou už při stopových množstvích O₂)
- **fakultativně anaerobní** (dokáží „přepínat metabolismus“ a přizpůsobit se)
- **aerotolerantní** (metabolismus „nepřepínají“, ale také se přizpůsobí, v praxi neodlišitelné od předchozích)
- **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) a anaerobní (vyžadují atmosféru bez kyslíku)

1.6.4 další možnosti klasifikace

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

1.7 Přehled klinicky nejvýznamnějších bakterií

1.7.1 Nejdůležitější grampozitivní koky

1.7.1.1 *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
- **koaguláza-negativní stafylokoky**, které nacházíme na kůži za fyziologických okolností, ale mohou způsobovat i močové infekce a infekce krevního řečiště.

1.7.1.2 *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, spálovou angínu, flegmóny ve tkáních, fasciitidy („masožravý streptokok“)
 - ***S. agalactiae*** neboli „streptokok skupiny B“ – močové infekce, infekce novorozence
 - takzvané „**non-A-non-B**“ streptokoky – nespecifické záněty hrtanu
- **viridující** (alfahemolytické) streptokoky
 - ***S. pneumoniae* = pneumokok** – záněty středního ucha, sinusitidy, záněty plic, mozkových blan
 - takzvané „**ústní**“ streptokoky – normálně nepatogenní, ale mohou způsobovat endokarditidy
- málo významné **streptokoky bez hemolýzy** (gamahemolytické)

1.7.1.3 Enterococcus

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

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

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

1.7.2 Nejdůležitější grampozitivní tyčinky

1.7.2.1 Listeria

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

1.7.2.2 Corynebacterium

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

1.7.2.3 Bacillus

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

- **Bacillus anthracis** – původce anthraxu (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

1.7.2.4 Nocardia

Je to větvená tyčinka způsobující nokardiózu (podobné aktinomýkóze, viz 1.2.5)

1.7.3 Nejdůležitější gramnegativní koky:

1.7.3.1 Neisseria

- **N. gonorrhoeae** – „gonokok“ – původce kapavky
- **N. meningitidis** – „meningokok“ – i zdravý ho mohou mít v krku, ale způsobuje zápalý mozkových blan s velice rychlým průběhem, často končící smrtí po několika hodinách. Gonokok i meningokok jsou uspořádány ve dvojicích.
- Takzvané „ústní“ **neisserie** – normálně přítomny v krku, výjimečně patogenní jinde

1.7.3.2 Moraxella catarrhalis

Starší název *Branhamella catarrhalis* – občas infekce HCD

1.7.4 Nejdůležitější gramnegativní tyčinky

1.7.4.1 Enterobakterie

Jde o bakterie, které mají vztah ke střevu člověka a jiných obratlovců. Patří mezi nejvýznamnější klinicky významné bakterie, zároveň jsou ale i předmětem různých výzkumů. Lze je rozdělit například podle patogenity

- **Obligátně patogenní enterobakterie**
 - **Salmonella – antropopatogenní serovary** způsobují tyfus a paratyfy (sepse)
 - **Salmonella – zoopatogenní serovary** způsobují průjmové nemoci – salmonelózy
 - **Shigella** – způsobuje průjmovou nemoc, tzv. bacilární úplavici
 - **Yersinia pestis** – původce moru
 - **Yersinia enterocolitica, Y. pseudotuberculosis** – původci průjmových nemocí
- **Oportunně patogenní enterobakterie**
 - **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 infekce
- **Nepatogenní enterobakterie** existují, ale nemají význam pro člověka

1.7.4.2 Gramnegativní nefermentující tyčinky

- ***Pseudomonas aeruginosa*** – způsobuje popáleninové infekce, nozokomiální infekce, zápaly 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 kokotýčinka až kok, ale z praktických důvodů bývá řazen sem.

1.7.4.3 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
- ***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, další druhy vibrií a příbuzných aeromonád způsobují také průjmy, nebo také infekce ran např. při kuchání ryb
- ***Legionella*** – původce legionářské nemoci (dýchací infekce u seniorů)
- ***Bordetella*** – především *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*, původci dávivého kašle
- ***Francisella*** – především *Francisella tularensis*, původce tularémie neboli zaječího moru

1.7.5 Nejdůležitější anaeroby:

1.7.5.1 *Clostridium*

Jsou to grampozitivní sporulující 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 enterotoxikózu

1.7.5.2 *Actinomyces*

Jsou to grampozitivní dlouhé tyčinky až větvená vlákna – způsobuje aktinomykózu (pozor, neplést s houbovou infekcí – mykózou)

1.7.5.3 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.

1.7.6 Nejdůležitější spirochety:

1.7.6.1 *Treponema*

Hlavní je druh *T. pallidum* – původce syfilis (pohlavně přenosná celková nemoc). *Treponema denticola* se podílí na zánětlivých procesech v ústní dutině

1.7.6.2 *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)

1.7.6.3 *Leptospira*

Je to původce leptospirózy (infekce ran či dýchacích cest, zpravidla od potkanů a jiných hlodavců)

1.7.7 Nejdůležitější z ostatních bakterií:

1.7.7.1 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)

1.7.7.2 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

1.7.7.3 Rickettsie a chlamydie

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

- ***Chlamydophila pneumoniae*** – další původce atypického zápalu plic
- ***Chlamydia 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*, *Bartonella*, *Ehrlichia*** jsou snad příbuzné rickettsiím. Způsobují rozličné nemoci, často přenášené členovci

1.8 Přehled mikrobiologických vyšetřovacích metod

1.8.1 Cíle a základní rozdělení mikrobiologických metod. Pojmy kmen a vzorek

1.8.1.1 Cíle mikrobiologické diagnostiky

Mikrobiologická diagnostika 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 přilepily omylem cestou. Toto odlišení probíhá částečně v laboratoři a částečně na klinickém pracovišti.

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 (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.

A 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. V řadě případů je velmi významná schopnost mikroba tvořit **biofilm**.

1.8.1.2 Pojmy vzorek a kmen

1.8.1.2.1 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.

1.8.1.2.2 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 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 kultivací mikroba na pevné půdě – proto má tato metoda výsadní postavení zejména v diagnostice bakterií.

1.8.1.3 Přehled přímých metod

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

1.8.1.3.1 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.

1.8.1.3.2 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 (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).

1.8.1.4 Metody nepřímé

Tyto metody budou podrobněji probrány ve druhém tématu. Těmito metodami **hledáme protilátky**. Rozdíl je v tom, že protilátka není součástí ani produktem mikroba – je produktem makroorganismu, i když by bez podráždění daným mikroben (resp. jeho antigenem) nevznikla. Nevýhodou nepřímých metod je, že nejsou důkazem toho, že je mikrob v těle právě přítomen – svědčí jen o tom, že se s ním tělo někdy setkalo (anebo se setkalo s očkovací látkou, která obsahovala části těla toho mikroba).

1.9 Metody přímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

Název metody	K přímému průkazu	K identifikaci
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

1.9.1 Mikroskopie

1.9.1.1 Nativní preparát

Nejjednodušší druh mikroskopie: mikroby se pozorují neobarvené, jen rozmíchané v kapce fyziologického roztoku a přikryté krycím sklíčkem. Nepoužívá se zpravidla imersní systém (viz dále). Nativní preparát se hodí

- a) na mikroby (baktérie, prvoky), kteří se **pohybují** (spirochéty, listerie)
- b) na **velké** mikroby – především tedy parazity a houby
- c) samozřejmě úplně nejlépe na **velké pohyblivé** mikroby (jako je bičíkovec *Trichomonas vaginalis*)

1.9.1.2 Mikroskopie v zástinu

Je to zvláštní druh nativního preparátu. V důsledku jiného směrování paprsků je výsledkem světlý objekt na tmavém pozadí. Používá se především u spirochet. V tomto případě se imersní systém (viz dále) používá.

1.9.1.3 Barvené preparáty

Preparáty, které mají být nějak obarvené, musí být nejprve **vysušeny** a poté **zfixovány** - obvykle protažením plamenem. (Fixace zabrání odplavení preparátu v průběhu barvicího procesu.) Poté proběhne vlastní barvení. Obarvený preparát se zase vysuší (např. filtračním papírem) a pozoruje se tzv. imersním objektivem bez krycího sklíčka; mezi objektiv a preparát se kápne kapka imersního oleje.

Jednoduché barvení – používá se například metylénová modř. Dá se provádět i přímo v klinickém pracovišti jako nouzové orientační vyšetření.

Mikrobiologové provádějí většinou **Gramovo barvení**. Je to nejdůležitější barvení v mikrobiologii.

Je nazváno po dánském badateli Christianu Gramovi. Rozliší baktérie podle typu **buněčné stěny** na tzv. grampozitivní a gramnegativní; neobarví se bakterie, které buněčnou stěnu nemají nebo mají stěnu zvláštního typu (tzv. Gramem se nebarvící bakterie). Barvení má čtyři kroky, po každém z nich se preparát oplachuje vodovodní vodou. Po posledním oplachu se vysuší.

Schéma Gramova barvení uvádí následující tabulka:

Chemikálie	Čas (s)	Jak reaguje grampozitivní bakterie	Jak reaguje gramnegativní bakterie
Violet	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 červenou

Výsledkem tedy je, že grampozitivní bakterie jsou modrofialové, gramnegativní červené a Gramem se nebarvící bakterie se vůbec neobarví.

Pokud Gramovo barvení použijeme k obarvení vzorku, vidíme i leukocyty, epitelie a další útvary.

Cytoplazma těchto buněk se zpravidla barví červeně, jádra červenofialově nebo fialově.

Různá **speciální barvení** se používají např. na tuberkulózu, na plísňe, některé parazity apod.

Ke speciálním účelům se používá **fluorescenční barvení**.

1.9.1.4 Interpretace mikroskopie

Použijeme-li mikroskopii jako **přímý průkaz**, nevidíme jenom mikroby samotné, ale také různé jiné věci, například epitelie a leukocyty makroorganismu. Jejich přítomnost a vzájemný poměr má velký význam při hodnocení nálezu. Například velké množství neutrofilů svědčí o bakteriální hnisavý zánět.

Množství jednotlivých elementů (baktérií, epitelí, leukocytů apod.) se hodnotí zpravidla semikvantitativně na jeden až tři (nebo čtyři) křížky.

Samozřejmě, je-li mikroskopie použita k **identifikaci**, vidíme už jenom buňky příslušného mikroba.

1.9.1.5 Elektronová mikroskopie

se používá u virů, ale nehodí se k rutinní diagnostice, spíše k výzkumu.

1.9.2 Kultivace

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

1.9.2.1 Základní pojmy

Kultivace se v praxi zpravidla provádí na umělých půdách. Většinou se při kultivaci mikroby rozmnoží. Mikroskopie je sice neklasičtější 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.

1.9.2.2 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 zřídka, 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 mikrobů, jež chceme namnožit.

VL-bujón je bujón s přídavkem 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).

1.9.2.3 Pevné (většinou agarové) půdy

Jsou to půdy, jejichž základem je zpravidla **živný 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 povrchu 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 naočkujeme 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.

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

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

1.9.2.4 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 klinikomikrobiologickými půdami úplně nejdůležitější:

Krevní agar je živný agar s přidavkem 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 "gama-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 rozložené 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.

1.9.2.5 Jak se kultivuje na pevných půdách

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

Bakteriologickou kličkou 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.

1.9.3 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.

1.9.3.1 Princip biochemických identifikačních testů

Je tedy takový, že bakterii 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**.

1.9.3.2 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 pozitivity kapka šumí – vznikají bublinky kyslíku. Výhodou je, že výsledek je viditelný během několika vteřin. Indikátor není třeba (bublinky jsou viditelné).

1.9.3.3 Reakce na diagnostických prouzcích (stripech).

Tyto reakce se také dají odečíst velmi rychle – během vteřin či nejpozději minut. Používá se *plastových diagnostických prouzců*, 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).

1.9.3.4 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.

1.9.3.5 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.

1.9.4 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.

1.9.5 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.

1.9.6 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 „všelákem“ 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.

Téma 2 Mikroorganismy a profilátková odpověď, nepřímý průkaz mikroorganismů pomocí stanovení profiláttek, vztah mikrobiologie a imunologie, význam očkování a pasivní imunizace.

2.0 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 vybuzení imunity 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.)

2.1 Anatomické bariéry a fyziologické mechanismy

2.1.1 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 **trhlínky**, 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 (klíšťová 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.

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

2.1.2 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.

2.1.2.1 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.

2.1.2.2 Trávicí cesty

Problematickým místem je dutina ústní, zejména místo přechodu mezi zubem a dásní. Velkou roli zde hraje složení **vícedruhového mikrobiálního biofilmu**, který zahrnuje jak bakterie škodlivé, tak i neškodné či možná dokonce prospěšné.

Dobrym 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.

2.1.2.3 Močové cesty a mužské pohlavní orgány

V případě ochrany močových cest (a u muže také prostaty a varlat) před infekcí je nejúčinnější 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.

2.1.2.4 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.

2.1.2.5 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 přemířšená. Horečka (či zvýšená teplota) je však již přímým důsledkem fungování mechanismů nespecifické imunity (viz kapitola 2.2).

2.2 Nеспецифická imunita

2.2.1 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.

2.2.1.1 Neutrofilly

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

2.2.1.2 Monocyty a makrofágy

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

2.2.1.3 Eozinofily

Jsou zmnoženy u některých typů alergie a u infekcí červy.

2.2.1.4 Bazofily a mastocyty

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

2.2.1.5 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).

2.2.2 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-fraakce. 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.

2.3 Specifická imunita

2.3.1 Lymfocyty

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

2.3.1.1 T-lymfocyty

Zrají částečně v brzlíku – jsou zodpovědné za buněčnou imunitu

2.3.1.2 B-lymfocyty a plasmatické buňky

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

2.3.2 Antigeny

Antigen je cizorodá struktura, která vyvolává tvorbu protilátek (viz dále). Je to vždy makromolekula (bílkoviny, polysacharidy, nukleové kyseliny); malé molekuly jsou antigeny 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 změnila a imunitní systém je přestal tolerovat
- **nádorové markery** – změněné znaky na nádorových buňkách
- **histokompatibilní (HLA)** – antigeny na vlastních buňkách, význam při transplantacích, určení otcovství. Organismus jimi rozeznává "svoje" od "cizího"
- podobně **antigeny na erytrocytech** rozhodují o krevních skupinách

2.3.3 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.

2.3.3.1 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

2.3.3.2 Třídy protilátek:

- **IgG** – největší část protilátek, začnou 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

2.3.4 Lymfoidní tkáně

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

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

2.3.5 Protinádorová imunita

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

2.4 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

2.4.1 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).

2.4.2 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. Nejlepší by bylo mít zcela čistý antigen, očištěný od jiných součástí mikroba, které mohou být případně jedovaté. To ale ne vždycky jde.

2.4.2.1 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*).

2.4.2.2 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. U Sabinovy vakcíny proti dětské obrně šlo o tvorbu slizničních IgA protilátek v trávicích cestách. Vakcína se proto podávala na lžičce.
- **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.

2.4.2.3 Pomocné látky

Kromě antigenu obsahují očkovací látky také další složky. Mnohé očkovací látky jsou naadsorbovány na hydroxid hlinitý. Většina očkovacích látek je chráněna proti znehodnocení použitím konzervačního činidla (obvykle tiomersalu).

2.4.2.4 Počty dávek

Obvykle není dostačující jedna dávka očkovací látky. V řadě případů je zapotřebí použít dvě nebo tři dávky v poměrně rychlém sledu a později pak udržovací (boosterovou) dávku. V některých případech musí být dávka opakována v pravidelných několikaletých intervalech po celý život (např. u tetanu 10 let).

2.4.2.5 Očkování v praxi

2.4.2.5.1 Očkování očkovacího kalendáře

Některá očkování jsou povinná po všechny, obvykle děti v předškolním věku. Existuje norma, podle které děti v určitém věku podstupují určitá očkování – tzv. očkovací kalendář. Tím, že je dítě očkováno, chrání nejen sebe, ale i své vrstevníky: epidemie nevznikne, dokud je dostatečná proočkovanost populace. Odpůrci očkování by si tedy měli uvědomit, že očkování není jen „jejich věc“. Měli by si také uvědomit, že některé zdánlivě banální choroby (třeba spalničky, zarděnky či příušnice) mají závažné komplikace (spalničková encefalitida, zarděnky těhotných, příušnicemi způsobený zánět varlat u dospělých).

Vzhledem k tomu, že v očkovacím schématu probíhají neustále průběžné změny, uvedeme jen přehled očkování, nikoli přehled jejich kombinací. Trendem je nahrazování celobuněčných očkovacích látek vakcínami s čištěnými antigeny, případně i vyráběnými rekombinantně, a trendem je také používání vícečetných vakcín (trivakcíny a tetravakcíny dnes ustupují hexa-, hepta- či oktavakcínám).

- **Očkovací látky proti bakteriálním infekcím**

- **Záškrt** (jde především o difterický toxin)
- **Tetanus** (opět se jedná hlavně o jeho toxin)
- **Dávivý kašel**
- **Haemophilus influenzae b**
- **Tuberkulóza** (v současnosti se vedou velmi bouřlivé diskuse, zda nadále očkovat ihned po narození, anebo očkování o několik měsíců odložit; oba postupy mají své vehementní zastánce i odpůrce)
- Zvažuje se zařazení očkování proti **pneumokokové infekci**

- **Očkovací látky proti virovým infekcím**

- **Spalničky**
- **Zarděnky**
- **Příušnice**
- **Žloutenka** (hepatitida) typu B
- **Dětská obrna** (donedávna perorální živá Sabinova vakcína, dnes usmrcená Salkova, podávaná injekčně)

2.4.2.5.2 Očkování mimo očkovací kalendář

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

- 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
- 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. Riziko nemocničních infekcí *Pseudomonas aeruginosa* se snaží snížit očkovací látka *Psaeva*. U chronických stafylokokových infekcí lze použít preparát

Stafana. Používají se i tzv. stockované vakcíny, vyráběné přímo v mikrobiologických laboratořích a zahrnující antigeny z kmenů, které právě kolují mezi lidmi. Pokud jsou mikroby získány pomnožením kmenů získaných přímo od pacienta, hovoří se o tzv. autovakcínách (posiluje se reakce na pacientovy vlastní kmeny).

2.4.3 Pasivní imunizace

Pasivní imunizace se používá k léčbě a k profylaxi (pojem profylaxe viz výše). K pasivní imunizaci se používá sérum (antisér), a to jednak **homologních** (tj. lidských), jednak **heterologních** (zvířecích). Séra (zvláště heterologní) musí být pečlivě čištěna, a i tak dochází záhy k jejich vypuzení, takže jejich účinek netrvá dlouho. Homologní séra mohou být specifická nebo nespecifická.

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), plynatě sněti (GASEA) a stafylokokovým infekcím (STASEA).

2.5 Metody nepřímého průkazu mikrobů (přehled a charakteristika)

2.5.1 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:

2.5.1.1 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, antigenní analýzu**

2.5.1.2 Průkaz protilátky pomocí antigenu

Použije se laboratorní antigen a smíchá se s pacientovým sérem

2.5.1.3 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“)

2.5.2 Přehled sérologických metod

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

2.5.3 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**.

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.

2.5.4 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 mikroblem 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:

Zjišťujeme, 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 titer, ale jeho **změna během dvou či tří týdnů**. Pokud během se během této doby titer 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.

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

Zjišťujeme tzv. aviditu, to je síla vazby protilátky na antigen. Čerstvé protilátky (u akutní infekce) bývají nízkoavidní, „ještě se neumějí vázat na antigen příliš silně“. Tato metoda je poměrně nová a zatím se příliš nepoužívá.

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. Zpravidla platí, že „opětovné probuzení infekce“ má podobnou protilátkovou odpověď jako primární akutní infekce.

2.5.5 Precipitace a aglutinace

2.5.5.1 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).

2.5.5.2 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).

2.5.6 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**.

V **první fázi** ke dvěma složkám (*laboratorní antigen plus sérum od pacienta - nebo laboratorní protilátka plus vzorek, ve kterém předpokládáme antigen*) přidáme komplement. Pokud je reakce pozitivní, komplement se naváže na komplex antigenu s protilátkou. Pokud je reakce negativní, komplement je volný. Na komplementu je zajímavé to, že se neváže ani na samotnou protilátku, ani na samotný antigen – *pouze na komplex, který z antigenu a protilátky vznikl*. Právě proto se používá v rámci diagnostiky - pokud se komplement naváže, je jisté, že došlo ke vzniku komplexu. Problém je ale v tom, že navázání komplementu na komplex antigen-protilátka není samo o sobě vidět. Proto musí mít komplementfixační reakce ještě **druhou fázi**.

Nyní přidáme do reakce tzv. *indikátorový systém*. Je to soustava známého antigenu (*beraní erythrocyty*) a známé protilátky (takzvaný *amboceptor – králičí protilátky* proti beraním erythrocytům). Tato soustava má jednu zajímavost: když se na ni naváže komplement, dojde k hemolýze erythrocytů. No a v tom je právě onen vtip: pokud se v první fázi všechen komplement vyvázel na soustavu antigen - protilátka, nezbyl žádný volný komplement a indikátorový systém zůstane nedotčen. Pokud ale byla reakce negativní, zůstal komplement volný, váže se na indikátorový systém a hemolyzuje ho. Znamená to, že hemolýza svědčí o negativitě reakce, nepřítomnost hemolýzy o pozitivitě.

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.

2.5.7 Neutralizační reakce.

2.5.7.1 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 neplechu (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 nezmuže 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 syfilis).

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

2.5.7.2 Některé příklady neutralizací

ASLO – antistreptolyzin 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. Antistreptolyzin O neutralizuje lýzu červených krvinek, kterou by normálně provedl streptolyzin 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.

2.5.8 Reakce se značenými složkami

2.5.8.1 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 svázané 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 mikrobů, nahradily starší a méně přesné metody.

2.5.8.2 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.

2.5.9 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.



Takto funguje např. přístroj "Elisamat", kterému se na mikrobiologii u sv. Anny začalo říkat "Kryštofek", protože jedna jeho část je od firmy Columbus. Ze začátku s ním byly jisté problémy, např. do reakce omylem přidal etanol namísto kyseliny sírové. Toto dokumentuje následující

píseň s názvem "Kryštofek". Mimochodem, doba jde dál, a i „Kryštofka“ dnes nahradily ještě modernější automaty.

1. Ten den všechno chystalo se na velikou slávu
jako kdyby měli přivést posvátnou nám krávu
Chyběly jen prapory a duo Lábus – Kaiser
když měl přijít na serolku slavný minilyzer
Škatulata hejbala se v nebyvalé míře
neboť místo dělalo se pro posvátné zvíře
Od těch dob co dorazilo to památné ráno
Všichni se s ním spřátelili, Kryštofek je zváno.

**R. Kryštofek nám denně mění všední chvíle v svátky
neobjeví Ameriku, zato protilátky.**

**/:Bez Kryštofa byli bychom ubožáci málem
Kryštofek je našim velkým elisovým králem!:/**

2. Bohužel se naše zvíře z kovu skla a plastu
oddávati začalo nám z ničeho nic chlastu.

Zkrátka místo vitriolu líh mu lépe chutná
Serolka i virolka je z toho celá smutná.

Kryštofek je náročný a ošidit se nedá
a ta jeho obsluha je učiněná věda

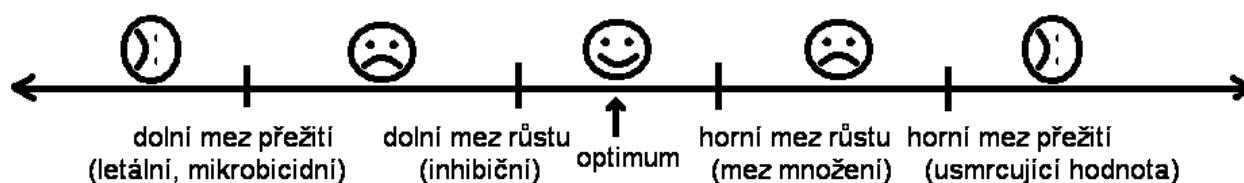
Ti co máme rodiny to celkem dobře chápem

S Kryštofem je stejná práce jak má žena s chlapem **Refrén**

Téma 3 Metody boje s mikroorganismy. Dekontaminační metody, antimikrobiální látky. Rezistence na antibiotika, její příčiny a možnosti, co proti ní dělat. Strašáci moderní doby: MRSA a ti druzí. Přehled metod testování citlivosti na antimikrobiální látky.

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

3.1.1 Chování mikrobů při změnách fyzikálních a chemických faktorů



3.1.1.1 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.

3.1.1.2 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.

3.1.1.3 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**.

3.1.2 Praktický význam mezí růstu a přežití

3.1.2.1 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.

3.1.2.2 Inhibiční meze a optimální hodnoty

Jsou důležité pro pěstování (kultivaci) bakterií. Je důležité vědět, že různé bakterie se liší (často velmi podstatně) ve svých nárocích na teplotu, vlhkost, koncentrace solí apod. Jednak je při kultivaci konkrétní bakterie důležité vytvořit jí vhodné podmínky, jednak lze rozdíly mezi druhy a rody bakterií použít také při jejich určování (roste na půdě s vysokou koncentrací soli? je to stafylokok; neroste tam? není to stafylokok). Inhibiční mez u antimikrobiálních látek (minimální inhibiční koncentrace) je důležitá pro antimikrobiální léčbu.

3.2 Zásady praktického použití dekontaminačních metod

3.2.1 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
 - 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 nedodrží – sestra potře kůži desinfekcí a hned už píchá injekci!).

Protože koncentrace, teploty a působení jsou u každé metody a u každého prostředku jiné, je vhodné mít po ruce dostatečně čerstvý přehled těchto čísel. K tomuto účelu jsou průběžně aktualizovány příručky, informace (byť někdy subjektivně zkreslené) poskytnou i výrobci sterilizačních a desinfekčních zařízení a potřeb. Dobré je také mít k dispozici platnou vyhlášku. Je potřeba zjistit, zda se metoda hodí pro účel, pro který ji chceme použít, jaké se užívají hodnoty působícího faktoru (teploty, koncentrace) a jaký čas je předepsán pro jeho působení (u desinfekce je někdy místo přesného časového údaje udáno „do zaschnutí“ – to ovšem znamená, že prostředek je skutečně nutno nechat zaschnout!). U desinfekce je velice důležitý údaj o spektru účinku. Zpravidla se používají následující písmenné zkratky:

- **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)

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

3.2.2 Definice jednotlivých pojmů

3.2.2.1 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).

3.2.2.2 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.

3.2.2.3 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.

3.2.2.4 Příprava před dekontaminací a uchování 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 sáčcích vydrží předměty sterilní 3 měsíce, je-li sáček uzavřen lepením, avšak jen 4 týdny, je-li uzavřen pouze sešíváčkou. To vše stanoví vyhláška.

3.2.2.5 Kontrola účinnosti dekontaminace

Orientačně – smyslově – např. pomocí charakteristického zápachu

Stanovení skutečné koncentrace desinfekčních prostředků (chemicky)

Chemická kontrola sterilizace využívá indikátorů, které při určité teplotě mění vlastnosti (např. zbarvení).

Způsob **biologický** užívá odolné kmeny *Bacillus subtilis* či *B. stearothermophilus*. Bakterie jsou podrobeny normálnímu sterilizačnímu cyklu – nesmějí přežít. Přitom jde o velmi odolné sporující bakterie, kterým stačí už malé snížení teploty či zkrácení doby sterilizace, aby přežily.

3.2.2.6 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".

3.2.2.7 Asepsy a antisepsy

jsou pojmy, které souvisejí s pojmy jako desinfekce, sterilizace apod., ale nesou v sobě jiný úhel pohledu. Nejde tu o to, který škodlivý organismus (všechny mikroby, patogenní mikroby...) má být zničen, ale o to zda jde o pasivní či aktivní přístup. Zásady asepsy a antisepsy vytvořil v chirurgii lord Joseph Lister, v porodnictví maďarský badatel Ignác Semmelweis.

Asepsy vychází z toho, že dané prostředí je primárně sterilní či přinejmenším zbavené patogenů. Aseptické postupy jsou tedy takové, které pasivně brání vniknutí infekce do takového prostředí. Patří sem vše od stavebního uspořádání operačních traktů (odděleně od ostatního nemocničního provozu) přes používání důsledně jednorázových nebo sterilizovaných nástrojů a materiálů až po režimová opatření. Asepticky se ale musí pracovat nejen na oddělení u pacienta, ale i v laboratoři při zpracování vzorků - cílem je nekontaminovat vzorek mikroby z prostředí, což by znamenalo falešně (falešně pozitivní) výsledky

Antisepsy zahrnuje postupy, které aktivně zasahují proti infekci. Mohu sem patřit postupy desinfekce a sterilizace, ale v podstatě i používání antiseptik, které jinak řadíme spíše mezi používání antimikrobiálních látek než mezi dekontaminační postupy.

3.3 Přehled nejdůležitějších dekontaminačních metod

3.3.1 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 **horkou vodou pod tlakem** - pouze u chirurgických nástrojů k okamžitému použití. Málo se používá také sterilizace **horkým olejem**.

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 **ohněm** se používá prakticky jen u mikrobiologických klíčků, protože většinu materiálů silně poškozuje. Spalování se hodí u odpadů.

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

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

Paskalizace je sterilizace tlakem v potravinářství

Ostatní metody: frakcionovaná sterilizace, filtrace roztoků aj. jsou speciální, používají se výjimečně

3.3.2 Vyšší stupeň desinfekce

používá **glutaraldehydu**, **Sekuseptu** nebo **Persterilu** (vyhláškou je dáno, jaké koncentrace je potřeba použít - vždy jsou vyšší než pro běžnou desinfekci). Vyšší stupeň desinfekce slouží například k ošetřování flexibilních endoskopů s vláknovou optikou, popř. i jiných přístrojů, u kterých nelze použít žádné metody sterilizace.

3.3.3 Desinfekce

3.3.3.1 Fyzikální metody

Var: a) za normálního tlaku – ve zdravotnictví alespoň 30 minut. V kuchyni i méně, ale jídlo se musí provařit (i uvnitř!), **b) v tlakových hrncích** – zkrácení času – ani v tom případě však nejde o sterilizaci!

Jiné fyzikální metody - filtrace, žihání, slunění, UV záření (pracovní plochy v laboratoři, operační sál, kde se právě nepracuje) apod.

3.3.3.2 Desinfekční prostředky

3.3.3.2.1 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 **chlornan sodný** (NaOCl), u nás Savo s všestranným použitím. Také chlornany jsou bělidlem. **Chlornan vápenatý** ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$; chlorové vápno) se hodí k hrubé desinfekci velkých ploch. Dříve se sypal do suchých záchodů (i do táborových latrin), avšak hygienický přínos byl sporný a ekologický negativní.

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

Jodovou tinkturou se ošetřovaly drobných rány. Pak se zjistilo, že alergizuje a je agresivní, dnes se ale ukazuje, že to zase není tak hrozné. Přesto lepší jsou prostředky jako je **Jodonal B**, **Jodisol** a **Betadine**, kde je jód vázán v komplexu. Jodonal B by měl dostat u nealergických pacientů před Ažatinem při ošetřování chirurgických ran.

Manganistan draselný se již neuvádí.

3.3.3.2 Alkoholy, fenoly a aldehydy

Formaldehyd se samotný používá spíše jako konverzační činidlo a k uchování očkovacích látek. Často se však aldehydy (vedle formaldehydu především glutaraldehyd) používají ve směsích, např. s tenzidy.

Kresol (lysol) je účinný, pro zápach a agresivitu se již téměř neužívá.

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

3.3.3.2.3 Kvarterní amonné soli a tenzidy

Orthosan BF 12 k desinfekci např. povrchů – pozor, některé jiné Orthosany nejsou desinfekční prostředky, např. Orthosan BF 40 je na vši!

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

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

3.3.3.2.4 Anorganické kyseliny a louhy

Hodí se nanejvýš k hrubé desinfekci v zemědělství a průmyslu

3.3.3.2.5 Těžké kovy

Používají se zřídka, např. k ochraně budov před plísněmi – Lastanox

3.3.3.2.6 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 desinfiens. 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.



Desinfekce

Před stavením na zápraží
vidím ruce mladé Bláži
Vidím je jak perou plínu
v dvouprocentním chloraminu

Řekl pacoš, podle plánu
natřete mi moji ránu.
Jednoprocentní jodonal
poradil jim a pak skončil

Ten kdo nehledí jen vzhůru
používá Inciduru
Na podlahy sestra, docent
ředí ho až na pět procent.

Uviděl jsem jednou vílu
měla ruce v persterilu
Nejlepší je když má jen ta
nula celá dvě procenta

Jinde ovšem stádo volů
užívalo alkoholu
Účinkuje pouze málo
nic co by tu za řeč stálo

Kdo chce žít v těle zdravém
ten desinfikuje Savem
Obal podrobnými slovy
pokyny jak ředit poví

3.4 Antimikrobiální látky – 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.

3.4.1 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)

Anti-tuberkulóza – 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

3.4.2 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

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

3.5.1 Betalaktamy I. – Peniciliny

působí na buněčnou stěnu bakterií, jsou baktericidní (bakterie zabíjejí), dobře se kombinují s aminoglykosidy, **nesmějí se kombinovat s makrolidy, tetracykliny, chloramfenikolem a linkosamidy** (navzájem snižují svůj účinek). Nejsou téměř toxické, 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)

3.5.1.1 Klasické peniciliny

penicilin – účinný například na infekce způsobené pyogenními streptokoky (angíny, spály, flegmony ve tkáních), ale i na řadu dalších infekcí včetně například syfilis. Existuje v injekční (G-penicilin) a perorální (V-penicilin) formě, a také jako depotní preparáty

3.5.1.2 Protistafylokokové peniciliny

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

3.5.1.3 Širokospektré peniciliny

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

3.5.1.4 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 amoxicilinem (AUGMENTIN, AMOKSIKLAV), sulbaktam v kombinaci s ampicilinem (UNASYN), kyselina klavulanová s tikarcilinem (TIMENTIN) a podobně

3.5.1.5 Protipseudomonádové peniciliny

Jsou účinné i proti některým gramnegativním nefermentujícím tyčinkám. Je to například **tikarcilin**

3.5.2 Betalaktamy II. – Cefalosporiny

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

3.5.2.1 Cefalosporiny I. generace:

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

3.5.2.2 Cefalosporiny II. generace:

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

3.5.2.3 Cefalosporiny III. generace:

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

3.5.2.4 Cefalosporiny III. generace s inhibitorem betalaktamáz:

cefoperazon se sulbaktamem (SULPERAZON)

3.5.2.5 Cefalosporiny IV. generace:

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

3.5.2.6 Cefalosporiny Cefamyciny

Jsou příbuzné cefalosporinům, liší se v detailech. Nejznámější je **cefexitin** (MEFOXIN), vyznačující se dobrým působením na anaeroby.

3.5.3 Betalaktamy III. – Monobaktamy a karbapenemy

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

3.5.3.1 Monobaktamy

Příkladem je **aztreonam**.

3.5.3.2 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).

3.5.4 Glykopeptidy

Vankomycin a **teikoplanin** působí také hlavně na buněčnou stěnu. Jsou to rezervní antibiotika na G+ mikroby. Jsou značně toxické (ucho, ledviny, krvetvorba, u vankomycinu při příliš rychlé infuzi tzv. „syndrom rudého muže“ – horní polovina těla pacienta celá zrudne).

3.5.5 Chinolony

Působí na tvorbu bakteriální DNA. Jsou vlastně chemoterapeutika, nikoli antibiotika. I. a II. generace se hodí jen pro močové infekce (v moči se koncentrují, ve tkáních málo). Od II. generace se nesmějí podávat dětem a dospívajícím do 18 let (mají asi vliv na chrupavku).

3.5.5.1 Chinolony I. generace

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

3.5.5.2 Chinolony II. generace

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

3.5.5.3 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 doporučíme spíše omezit.

3.6 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.

3.6.1 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**, a **amikacin**. Hodí se hlavně na G- mikroby.

Klasické antibiotikum této skupiny byl **streptomycin**, který se však dnes už používá jen v léčbě TBC.

3.6.2 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. Používá se **tetracyklin**, či **doxycyklin**

3.6.3 Chloramfenikol

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

3.6.4 Makrolidy

jsou účinné prakticky jen na G+ bakterie (azithromycin i na hemofily). Nevolnost při užívání I. generace se u II. generace snížila. Používají se mj. při alergii na peniciliny.

3.6.4.1 I. generace:

Léčebně se již téměř nepoužívají. Testu je se však citlivost s tím, že se dá zpravidla vztáhnout i na jiné makrolidy. Patří sem **erytromycin**.

3.6.4.2 II. generace:

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

3.6.5 Linkosamidy

jsou rezervní antibiotika. Používají se jen v nemocnici při infekcích kostí a měkkých tkání. Patří sem **linkomycin** (LINCOCIN) a **klindamycin** (DALACIN C)

3.6.6 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!)

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

3.6.7 Antituberkulotika

jsou např. **izoniazid** nebo **etambutol**. Vždy se používá kombinace tří nebo čtyř látek, dlouhodobá léčba

3.6.8 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), **itraconazol** (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.

3.6.9 Antivirotika

proti herpesvirům: např. **acyklovir** (ZOVIRAX, HERPESIN)

proti chřipce: např. **amantadin** či novější a účinnější **oseltamivir**

proti HIV: např. **zidovudin**, další jsou nyní ve vývoji – na vývoji nadějných preparátů se podílí mj. český vědec dr. Holý

3.6.10 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 oblým červům: např. **pyrvinium**

3.6.11 Antiseptika a lokální antibiotika

Vedle již zmíněného bacitracinu s neomycinem (FRAMYKOIN) se používá **mupirocin** (BACTROBAN), různé formy SEPTONEXu, ale také spousta dalších látek, používaných jako desinficiencia: JODONAL B, JODISOL, PERSTERIL, **peroxid vodíku**, nebo **chlorhexidin**.

(Poznámka: Názvy látek jsou 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!)

3.6.12 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			
	Vankomycin			značná – ušní, močová, popř. nervová
syntézu proteinů	Aminoglykosidy	bakteriostatické	vylučování převážně žlučí	játra, trávení. Ne do 8 let (zuby!)
	Tetracykliny			malá (játra, trávení)
	Makrolidy			malá (trávicí obtíže)
	Linkosamidy			
nukleové kyseliny	Chinolony	baktericidní	vylučování převážně ledvinami	!!krvetvorba, trávicí, nervový
	Polymyxiny			malá, trávicí, CNS Ne do 18 let!
cytoplasmatickou membránu				velká: nervy, močový systém
metabolismus	Sulfonamidy	bakteriostatické		ledviny, GIT a jiné

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

3.7.1 Primární a sekundární rezistence

3.7.1.1 Primární rezistence (odolnost mikrobů vůči antibiotikům)

je **společná vždy všem kmenům daného druhu**. Je zpravidla dána tím, že stavba mikroorganismu vylučuje, aby na něj dané antibiotikum působilo. Například betalaktamová antibiotika, působící na buněčnou stěnu, nelze použít k léčbě infekcí způsobených mykoplazmaty, protože ta žádnou buněčnou stěnu nemají. Některá antibiotika účinkují jen na grampozitivní nebo naopak jen na gramnegativní bakterie apod.

3.7.1.2 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 je umožněna mutacemi na bakteriálním chromosomu nebo plasmidu. Za normálních okolností by se mutace neuplatnila. Pokud ale používáme určité antibiotikum, stane se „umění být necitlivá“ pro bakterii výhodnou a taková bakterie logicky vyhrává v soutěži s ostatními. Nadměrným a zejména nesprávným používáním antibiotik tedy zvýhodňujeme (selektujeme) rezistentní kmeny bakterií. Proto je tak důležité používat antibiotika s rozvahou.

3.7.2 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

3.7.3 Betalaktamázy a jejich inhibitory

Asi nejnámějším i nejdůležitějším příkladem faktoru rezistence jsou různé typy **betalaktamáz** – jsou to enzymy, které produkují nejrůznější typy bakterií. 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 vysytí tím, že rozštěpí betalaktamový kruh inhibitoru, zatímco skutečně účinné antibiotikum zůstává nepoškozené a může působit.

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

3.7.4 Některé významné typy polyrezistentních kmenů, způsobující často nemocniční infekce

3.7.4.1 MRSA – methicilin rezistentní stafylokoky.

Kvůli změně cytoplasmatické membrány nevpuštějí tyto bakterie do svých buněk oxacilin (či methicilin, používaný v některých zemích tak jako oxacilin u nás). Oxacilin je přitom klasické protistafylokokové antibiotikum. 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). Ve světě se bohužel objevily i stafylokoky částečně nebo úplně rezistentní na glykopeptidy (VISA, VRSA).

3.7.4.2 VRE – vankomycin rezistentní enterokoky.

Kmeny enterokoků, které jsou necitlivé na glykopeptidy a zpravidla nejsou citlivé ani na většinu ostatních antibiotik. Léčba je obtížná, nezbytná jsou nová antibiotika (linezolid, quinupristin/dalfopristin). Léčí se jen infekce, nikoli nosičství.

3.7.4.3 Producenti ESBL

Jde o gramnegativní bakterie (enterobakterie a gramnegativní nefermentující bakterie), které produkují takzvané širokospektré betalaktamázy. Ani účinek inhibitorů na ně není dostatečný. I v tomto případě zůstává jen velmi omezená škála účinných léčiv. Navíc tyto kmeny často v rámci nemocničních infekcí postihují oslabené jedince, kteří mnohá antibiotika nemohou dostávat vzhledem ke své základní chorobě.

Při prevenci výskytu (nejen) ESBL je třeba vyhýbat se jednak **induktorům** tvorby ESBL, což jsou antibiotika, která vybuzují tvorbu betalaktamáz, jednak (a ještě více), **selektorům** kmenů produkujících ESBL. Selektory jsou zpravidla širokospektrá antibiotika (typicky cefalosporiny třetí generace), která vyhubí všechny citlivé kmeny; zůstanou (a pomnoží se) pouze kmeny rezistentní. Proto je potřeba vyhýbat se zbytečnému užívání širokospektrých antibiotik.

3.7.5 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. Nevhodným lékem je zejména:

- Lék, který **není účinný** na zjištěného nebo pravděpodobného původce nemoci
- Lék, který účinný je, avšak je **zbytečně širokospektrý**, přičemž existuje možnost jiného léku, který selektivně zasáhne pouze původce onemocnění
- Lék, který je znám jako **induktor či selektor tvorby faktorů rezistence** (například širokospektrých betalaktamáz), pokud existuje možnost podat jiný lék, který tyto vlastnosti nemá, nebo má slabší.

Antibiotika nejsou lentilky, nejsou to léky proti zánětu či proti horečce. Nesmějí se používat tam, kde pravděpodobně nejde o bakteriální infekci, jen tak „pro jistotu“ či „z rozpaků“.

Antibiotika se musí používat cíleně, pro konkrétní infekční diagnózu konkrétního pacienta. Nemí možné, aby si oddělení vytvářela zásoby antibiotik „pro strýčka příhodu“ a pak je podle nějakých náhodných algoritmů používala.

Výjimečným případem je tzv. **antibiotická profylaxe** – podání jedné, výjimečně více (ale ne více než tří) dávek antibiotika tak, aby se pokryla riziková situace při chirurgickém výkonu (např. výkon na střevě – střevní bakterie se mohou dostat do břišní dutiny). Několikadenní „profylaxe“ praktikovaná na některých chirurgických odděleních je zásadně nesprávným postupem, který vede ke zvyšování rezistencí bakterií; pacientům nepomáhá, ale naopak škodí.

Svou roli v antibiotické politice samozřejmě hraje i **cena antibiotik** – zájem zdravotních pojišťoven, aby nebyly podávány příliš drahé preparáty, je naštěstí vcelku ve shodě se zájmem racionální antibiotické terapie. Jestliže antibiotické středisko požaduje, aby nebyly podávány léky zbytečně širokospektré, a pojišťovna, aby nebyly podávány léky příliš drahé, jde zpravidla o tytéž preparáty.

3.8 Testy citlivosti na antibakteriální látky

3.8.1 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. Podmínkou ovšem je, že kmen je získán z relevantního vzorku.

Nejběžněji se používá difúzní diskový test, který se snadno provádí, ale je pouze kvalitativní a nehodí se pro kmeny od závažných pacientů. U těch se používají kvantitativní testy – E-test anebo mikrodiluční test.

3.8.2 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.

V principu jde o to, že antibiotikum difunduje (prostupuje) z disku agarem dál, přičemž jeho koncentrace klesá. Každé vzdálenosti od disku by bylo možno přiřadit určitou koncentraci. "Předepsaná zóna" je vlastně taková, kde koncentrace odpovídá danému breakpointu, tj. koncentraci antibiotika v krvi (viz výše).

Pro jednoduchost zde mluvíme jen o bakteriích; u kvasinek se tento test dělá zředka, u ostatních mikrobu vůbec.

3.8.3 Jiné testy

E-testy jsou 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). Test je tedy kvantitativní. Odečítání je jednoduché – na papírku je stupnice, a MIC se odečítá v místě, kde okraj zóny kříží papírek.

Mikrodiluční test funguje tak, že 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).

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

3.8.4 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.



Betalaktamázy

Má-li dívka absces kůže
či dokonce prsa
Oxacilin nepomůže
je-li vinen MRSA
Ten kdo si ho pustí k tělu
anebo i jiné
kupříkladu klebsiely
toho léčba mine

Tvoří si ty klebsiely
betalaktamázy
Na arzenál farmak celý
drze bobky hází
My se jich však nebojíme
z nemocnic je ženem
/: co na ně - to přece víme
čistota a penem! :/

Přesto jsou i těžké chvílky
kdy si stýská klinik
Pište recept na lentilky

navrhuje cynik
I když to dá mnoho práce
naději však máme
/: léky nové generace
zas je přečůráme :/

Téma 4 Přehled nejvýznamnějších virů, hub a parazitů v lidském těle

4.1 Rozdělení virů

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

4.1.1 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 budto na základě jedné molekuly RNA vytvoří druhé vlákno, nebo se pomocí reverzní transkriptázy převádí RNA zpátky do DNA (retroviry, například virus HIV)

4.1.2 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“

4.1.3 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 zpravidla odolnější vůči desinfekci, zvláště detergentům (Ajatin).

4.1.4 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).

4.2 Přehled klinicky nejvýznamnějších virů

4.2.1 Nejdůležitější DNA viry

4.2.1.1 Poxviry

- **Virus pravých neštovic** byl eradikován (vykořeněn) mimo jiné díky českým badatelům
- **Virus vakcinie** se používal k očkování proti pravým neštovicím

4.2.1.2 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

4.2.1.3 Adenoviry

Různé adenoviry způsobují různé infekce např. dýchacích cest, záněty spojivek, případně i střevní nákazy

4.2.1.4 Parvoviry

Významný je parvovirus B19, původce páté dětské nemoci – megalerythema infectiosum. Dítě vypadá, jako by ho někdo zfackoval.

4.2.1.5 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
- **Polyomaviry** způsobují některá vzácná onemocnění

4.2.1.6 Virus hepatitidy B

Je podrobně probrán v kapitole o hepatitidách

4.2.2 Nejdůležitější RNA viry

4.2.2.1 Enteroviry

I když se jmenují enteroviry, na rozdíl od enterobakterií nemají tak těsný vztah ke střevu. Sice se přenášejí trávicími cestami, způsobovat však mohou infekce různého typu. Patří sem především

- **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. Probere se zvlášť

4.2.2.2 Rhinoviry

Jsou to viry běžné rýmy. Ne každá rýma je ale způsobena právě těmito viry.

4.2.2.3 Rotaviry

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

4.2.2.4 Kaliciviry

Nejvýznamnější je virus hepatitidy E, o kterém je také pojednáno na jiném místě.

4.2.2.5 Togaviry

Pro člověka je významný především virus zarděnek (dětská nemoc s vyrážkou, očkuje se)

4.2.2.6 Flaviviry

- **Virus středoevropské klíšťové 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** viz kapitola o hepatitidách

4.2.2.7 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

4.2.2.8 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 příušnice, další dětské onemocnění, nebezpečné u dospělých mužů (orchitis)
- **Respirační syncytiální virus (RS virus)** je významným patogenem dolních cest dýchacích v prvním půlroce života.

4.2.2.9 Virus vztekliny

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

4.2.2.10 Filoviry a arenaviry

Mezi filoviry patří dva velmi vzácné, ale závažné viry: virus marburgské horečky a virus horečky Ebola. V obou případech jde o horečky s vyrážkou a dalšími příznaky. Léčba prakticky neexistuje. Podobná je i horečka lassa, jejíž původce patří mezi arenaviry.

4.2.2.11 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.

4.2.2.12 Retroviry

Typická pro tuto čeleď je přítomnost reverzní transkriptázy, tedy enzymu, který přepisuje RNA do DNA. Patří sem zejména virus HIV, o kterém je podrobněji pojednáno v jiné kapitole.

4.2.2.13 Viroidy

Viroidy jsou nekompletní virové částice, které ke svému životu potřebují část jiného viru. Typickým viroidem je původce hepatitidy D, který 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.

Houby se mohou množit nepohlavně (např. pučením), ale také pohlavně. K tomuto účelu si tvoří **spory a konidie**. Některé spory ovšem slouží i k nepohlavnímu množení.

Vědecká klasifikace hub se pořád vyvíjí. Situaci komplikuje fakt, že spousta hub má dvě formy – jednu třeba kvasinkovou, druhou pohlavní, která vypadá úplně jinak.

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

Mikroskopické houby jsou velmi různorodá skupina. Někdy se dělí do šesti tříd podle míry adaptace. Na jednom konci jsou ty, které jsou adaptované tak špatně, že nemají jak škodit (některé půdní houby), na druhém ty, které jsou adaptované tak dokonale, že téměř neškodí a spíše kolonizují sliznice (kandidy). Nejhorší infekce dělají "ty uprostřed".

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).

Mykóz přibývá, šíří se následkem "zmenšování světa", změny životního stylu a také antibiotické léčby, která zlikviduje bakterie, které houbám konkurují.

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**. Tužší vzorky (nehty apod.) se musí rozvolnit louhem, což zároveň zvýrazní kontury houbových vláken. Někdy se ke zvýraznění používá také **Parkerův inkoust**. 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-fluorocytozin** (flucytozin) je moderní rezervní antibiotikum, velmi drahé, hodí se pro léčbu v kombinacích.
- **Capsfungin** (CANCIDAS) je nové antimykotikum z jiné skupiny než předchozí. Zatím na něj nebyvají 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, obvykle označených latinsky jako tinea – např. **tinea capitis** (hlavová kůže), **corporis** (nechlupaté části těla), **barbae** (vousů), **pedis** (nohy). 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*. Mimo to způsobují kožní mykózy další houby, například *Malassezia furfur* způsobuje onemocnění zvané pityriasis versicolor, při které vznikají na kůži odbarvené okrsky. Z hlediska **přenosu** lze původce kožních mykóz rozdělit na **antropofilní** (čistě lidské, přenos člověk-člověk), **zoofilní** (přenos především zvíře-člověk, vzácně člověk-člověk) a **geofilní** (obvyklý přenos prostředí-člověk). Přenos se děje kontaktem a přes předměty.

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 hodí griseofulvin (GRICIN) a terbinafin (LAMISIL). Opomíjený, ale dobře účinný je jodid draselný.

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 odliší 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 "plísň" 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. Občas se vyskytne ohraňčené ložisko – aspergilom.

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.

4.3.4.2 Přenos

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

4.3.4.3 Diagnostika

Vedle přímého mikroskopického a kulturačního **průkazu** se zpravidla provádí nepřímý (serologický) průkaz. Např. u aspergilů je to nezbytné už proto, že jinak není zaručeno, že nalezený *Aspergillus* není kontaminací z prostředí. Využívá se např. KFR či precipitace (u aspergilů mikroprecipitace v agaru).

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
- **tkáňoví paraziti** – například toxoplasma

Paraziti vydrží zpravidla méně než bakterie, zato se mohou často aktivně cíleně pohybovat (skrz kůži, napříč naším tělem). Přenos je nejčastěji fekálně-orální, kontakt apod.

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 profílátky třídy IgE. Z mikroskopických metod se u střevních parazitů používá zejména

- **Faustova koncentrační metoda** (několikastupňové odstředění)
- **Tlustý nátěr podle Kato** (pouze jedno odstředění)
- **Grahamova metoda** – speciálně pro roupy (speciální lepicí páska)
- **Barvicí metody** (nejčastěji tzv. Gomoriho trichrom, u kryptosporidií barvení dle Ziehl-Neelsena či dle Miláčka)

První tři metody neobsahují barvení, pouze u nátěru dle Kato se používá malachitová zeleň, nikoli však k barvení parazitů, ale ke kontrastnímu zabarvení pozadí.

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

Jsou to jednobuněčné organismy, viditelné jen v mikroskopu. Někteří jsou jen o málo větší než bakterie. Poměrně často způsobují různé choroby.

Giardia lamblia. Je to bičíkatý prvok se zdvojenými organelami. Lze pozorovat dvě formy prvoka: trofozoit má dvě jádra a vypadá jako dětský dráček. Cysta má čtyři jádra a je značně odolná. Šíří se fekálně orálně. Jde o průjemové onemocnění, celosvětově velmi časté. Ve vyspělých zemích je častost menší, ale o to horší bývají příznaky.

Entamoeba histolytica. Jedná se o amébu – měňavku. Lze pozorovat trofozoity, ale častěji cysty, které mají zpravidla 4 jádra. (To je důležitý poznávací znak – vcelku neškodná *Entamoeba coli* jich má více). Za určitých okolností napadá střevní sliznici a tudíž se dostává do nejrůznějších orgánů těla. Druh *Entamoeba histolytica* je nutno odlišit od několika druhů nepatogenních améb, například *Entamoeba coli*.

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 (MOP V). U mužů se často klinicky neprojevuje. Přenos zpravidla pohlavní, vzácně poševními sekrety či močí. Výtok má charakteristický zápach po rybině, který se zvýrazní přikápnutím kapky louhu. To často umožní diagnózu už v ordinaci.

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. Malárie je nejvýznamnější tropické onemocnění. Přenáší se komárem *Anopheles*. Člověk je mezihostitelem – parazit v něm prodělává nepohlavní část svého vývoje. Parazit je závislý na teplotě, proto se v Evropě malárie prozatím nešíří. Může tu ale dojít k tzv. "letištní malárii", kdy parazit, který přicestuje z tropů, nakazí v letních měsících svou oběť již na našem území. Malárie postihuje erythrocyty. Projevuje se bolestmi hlavy a svalů, nevolností, později mrazením, třesavkou, horečkou a pocením. Záchvaty se pravidelně opakují po týdny až měsíce, zpravidla postupně slábnou. Komplikace jsou časté hlavně u tropické malárie.

Pneumocystis jiroveci. (Lidské nálezy původního druhu *Pneumocystis carinii* byly přearženy do tohoto nového druhu.) Je to pozoruhodný organismus – něco mezi prvokem a houbou. Přenáší se zřejmě i vzduchem. Trofozoiti mají mnoho povrchových výběžků. Těmi se nalepí na stěnu plicní buňky. Častý je nález u imunokompromitovaných osob (včetně AIDS).

Léčba. Na mnohé prvoky (včetně trichomonád) platí metronidazol (AVRAZOR) a podobné preparáty. Na malárii platíval chinin. Dnes se používá dalších derivátů (Chlorochin apod.). U malárie se také doporučuje prevence. Ta spočívá jednak v ochraně před komáry (dlouhé nohavice aj.), jednak v užívání antimalarik (zcela výjimečný případ, kdy se antimikrobiální lék užívá preventivně!) U *Pneumocystis carinii* je výjimka – používají se antibiotika.

4.4.4 Motolice

jsou ploší „červi“ měřící několik mm až cm. Mají přísavky, někdy i trny. Na rozdíl od tasemnic se vyskytují po celém těle.

Schistosomy. Způsobují schistosomózy – dříve bilharziózy v subtropích 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

mohou být mnohem větší než motolice, ne ale všechny.

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.

Škulovec široký – *Diphyllobothrium latum* (až 10 m) – rybí tasemnice. Mírné příznaky, může být přítomna anemie (tasemnice bojuje s hostitelem o vitamin B 12).

Tasemnice dětská – *Hymenolepis nana* (7–40 mm) žije v tenkém střevě. Ve střevě bývá i několik desítek. Přenáší se hlavně v dětských kolektivech. Nespecifické příznaky.

Měchožil zhoubný – *Echinococcus granulosus* (2–10 mm) je malá, leč nebezpečná tasemnice. Hlavním hostitelem je pes..

Diagnostika: mikroskopie, u měchožila serologie; **léčba:** praziquantel, niklosamid, u měchožila mebendazol.

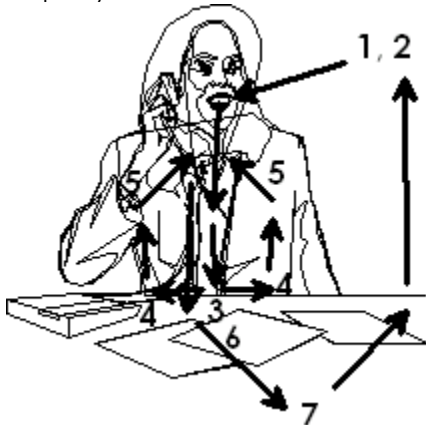
4.4.6 Hlístice

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).

Háďátko střevní – *Strongyloides stercoralis* – v ČR vyskytuje ojediněle. Larva migruje tělem, proto příznaky od kožních přes plicní až po trávicí a jiné. Diagnostika mikroskopí a ELISou.

Měchovci – rody *Ancylostoma* a *Necator*. Rovněž v ČR ojediněle. Kožní a plicní příznaky, anemie, deficit proteinů aj.

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. Životní cyklus: (1) vajíčko ve vnějším prostředí – (2) v něm se vyvine larva, čímž se vajíčko stane infekčním – (3) po pozření se larva uvolní – (4) proniká střevní stěnou – (5) lymfatickými a krevními cévami se dostane do plic – (6) odtud vzhůru do hltanu a trávicím ústrojím do střeva – (7) zde dospívají a jsou vylučovány, kruh se uzavírá. Potíže mohou vznikat při migraci larev (kašel, bolesti hrudníku, krev ve sputu; event. postižení mozku, ledvin) či při pobytu ve střevě – možnost ucpání žlučových a vývodů pankreatu. Ve stolici se prokazují vajíčka.

Škrkavka psí a kočičí – rod *Toxocara*. Životní cyklus je podobný jako u škrkavky dětské, avšak člověk je

nevhodným hostitelem, a proto se škrkavky obvykle nedostanou do střeva a bloudí různými orgány s příslušnými příznaky (tzv. larva migrans). Jen serologická diagnostika.

Léčba nálezů vyvolaných oblovci. Nejdůležitější jsou benzimidazolové preparáty – mebendazol, thiabendazol, levamisol. Na roupy se používá Pyrinium, na škrkavky vedle benzimidazolů také piperazin.

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 přísátí), 3) jako přenašeči infekcí. Někteří členovci se projevují jako pasivní přenašeči infekce, aniž by byli parazity v pravém slova smyslu.

Klíšťáci – čeleď *Argasidae*. Asi centimetroví členovci Napadají hlavně holuby. Svých hostitelů se nedrží. Přenášejí některé choroby. Napadení se projevuje začervenáním a svěděním.

Klíšťata – čeleď *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. V oblastech s výskytem klíšťat je třeba často se prohlížet. **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.

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 svařtělé kůži. Diagnóza je nesnadná (odlišení svrabového ekzému od ekzému jiného původu) a provádí ji zkušený dermatolog. Lze také provádět seškrab po rozvolnění kůže 5–10 % KOH. Seškrab se pozoruje pod mikroskopem. **Léčba**: potírání kůže Jacutinem.

Sametka podzimní – *Neotrombicula autumnalis*. Není závažná, vyskytuje se na podzim. Působí začervenání a svědění. Po 2–3 dnech odpadne. **Léčba** nebývá nutná.

Trudníci – *Demodex*. Drobní roztoči (0,3 mm), ucpávající chlupové folikuly. Jejich význam je nejasný. Mají nápadně protažený zadeček. Léčba není nutná.

Vši – *Anoplura*. Veš dětská (hlavová) je běžná u dětí, které se snadno nakazí v kolektivu (školka, tábor). Nákaza není pro rodinu ostudou, pokud je včas řešena. Veš šatní nežije na těle, ale v šatstvu. U nás se často vyskytuje v útulcích bezdomovců apod. Veš muňka (lidově filčka) se vyskytuje výhradně v pubickém ochlupení a její nákaza je vlastně pohlavně přenosnou chorobou. Jiný přenos (prádlem) je značně nepravděpodobný. Vši vyvolávají pupence, otoky, muňka namodralé skvrnky. Některé 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 ploštica. 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). Některé 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". Dnes je velmi vzácná. Lékařský zájem k použití pijavek se nyní vrací. Moderní medicínu zajímá hirudin – látka s antikoagulačním účinkem.

(Kapitoly 4.3 a 4.4 by měly být zkráceny, v podstatě jsou to zajímavé jen překopírované kapitoly z učebnice pro zdravotní sestry bez úpravy. Omlouvám se, že z časových důvodů je pro letošek nechávám takto nezkrácené)

Určeno pro interní potřebu studentů předmětu Mikroby lidského těla ve školním roce 2008/2009. Další šíření je možné jen se souhlasem autora.