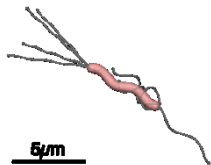


Interakce vybraných bakterií s imunitním systémem:

Stejně jako u virů je i v případě bakteriálních infekcí důležité vzájemné působení patogen – hostitel. Některé druhy bakterií zejména při chronickém průběhu onemocnění mohou vyvolat sekundární imunosupresi. Stejně tak v nějakém směru imunodeficitní hostitel může mít problém s eliminací infekce a ta pak přechází do chronické formy a může stávající imunodeficit dále prohlubovat nebo posouvat jiným směrem.

Helicobacter pylori:



Už na konci 19. století byly pozorovány spirální bakterie v mikroskopických preparátech z povrchu žaludeční sliznice. Tento objev však zapadl, protože převládl názor, že v nízkém pH žaludku nemohou bakterie přežít. Teprve za sto let od této první zmínky byla provedena úspěšná kultivace na obohacených půdách a bylo zjištěno, že mikrob si kolem sebe neutralizuje mikroprostředí díky produkci ureázy. Tento enzym rozkládá močovinu přítomnou v žaludeční šťávě na čpavek a ten neutralizuje HCl. Dále mikroba chrání hlen. Do hlubších vrstev sliznice mikrob neproniká, zato byly objeveny druhy žijící ve střevních kryptách.

Jedná se o spirální, gram-negativní bakterii, která kolonizuje žaludeční sliznici, kde žije v hlenové vrstvě a má mechanismy, aby přežila i v nízkém pH žaludku. Přenáší se oro-orální cestou, také např. přes nádoby, potraviny. Ve vyspělých státech se vyskytuje až u 50 % lidí a v rozvojových státech až u 80 %. Vyšší výskyt je prokázán u pacientů se žaludečními a dvanáctíkovými vředy ve srovnání se zdravou populací. Právě asociace s výskytem žaludečních vředů a silné podezření, že vřed je důsledkem infekce *H. pylori* vedla ke zvýšení zájmu o tuto bakterii. Interakce bakterie s hostitelem ale může mít u různých jedinců odlišný průběh. V každém případě vzniká zánětlivý proces v žaludeční sliznici, doprovázený infiltrací neutrofilů do tkáně. Zánět může mít asymptomatický průběh, nebo může vzniknout gastritida akutní nebo chronická, přičemž chronická vede ke vzniku žaludečního vředu. V průběhu dlouhotrvajícího zánětu se zvyšuje pravděpodobnost genetických změn v buňkách epitelu sliznice, mohou vznikat metaplazie (změna buněčného typu na jiný, který ale na daném místě být nemá a nedokáže plnit funkce původního typu), adenokarcinomy (zhoubný nádor ze žlázoového epitelu) nebo lymfomy (vlivem chronické infekce se začnou v žaludeční stěně tvořit lymfatické folikuly, které tam normálně být nemají a pak nastane maligní zvrát na lymfom).

Někdy je však diskutována otázka, zda *H. pylori* je jednoznačně patogen, může totiž působit i protektivně:

- bylo zjištěno, že infekce *H. pylori* chrání do určité míry před rakovinou jícnu
- kolonizace jedince v časném období života může poskytovat ochranu před střevními viry. Pravděpodobně díky *H. pylori* je silnější infiltrace tkáně imunitními buňkami, což působí protektivně. Naopak kolonizace jedince v pozdějším věku (což je většinou případ vyspělého světa) vede k rozvoji poškozujícího zánětu.

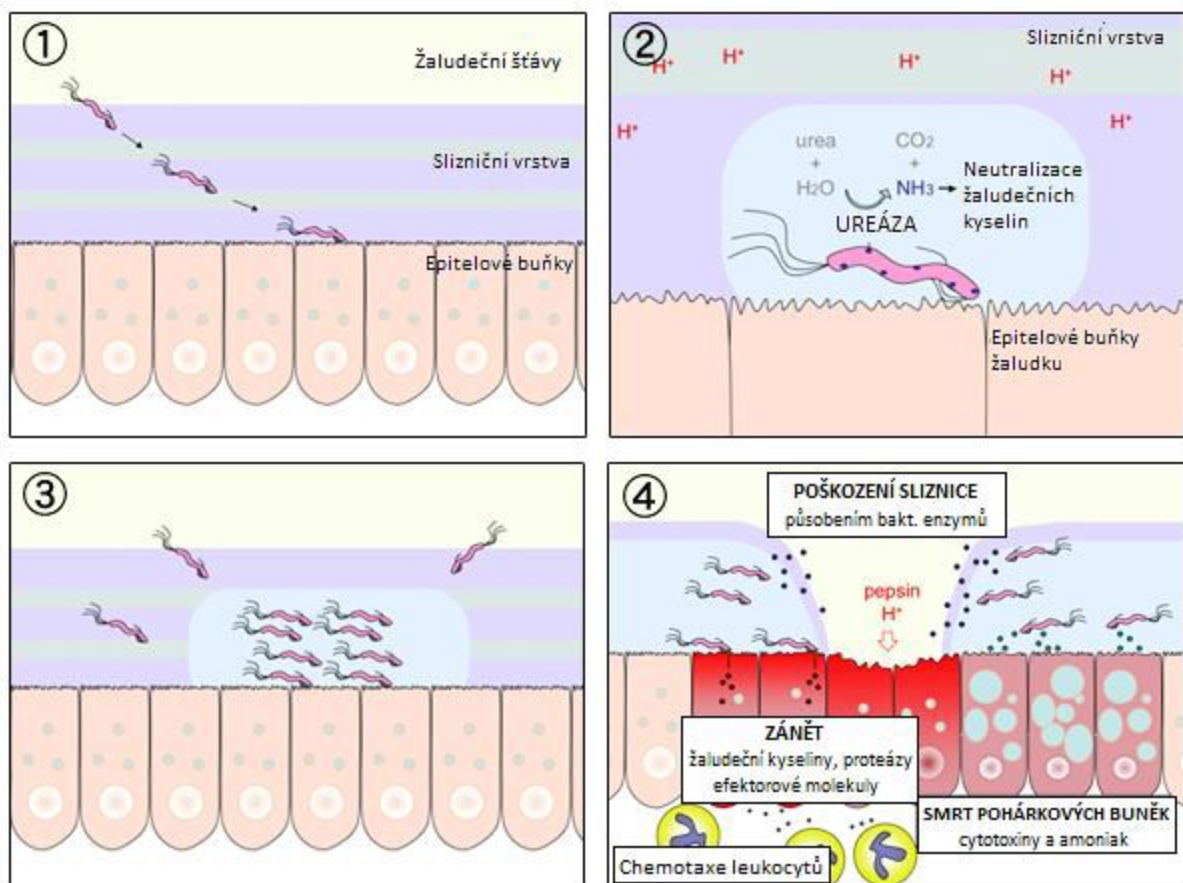
Na průběh interakce hostitel – patogen má vliv i kmen patogenu. Typ I je víc patogenní, protože díky své genetické výbavě produkuje látky s imunomodulačním účinkem (látku působící podobně jako chemokin IL-8) a dále toxin, který způsobuje vakuolizace v epitelových buňkách sliznice, a to vede dále k tvorbě erozí a následně vředů.

Také už zmíněná ureáza může ovlivňovat imunitní systém a zvyšovat patogenní působení:

- Vzniklý amoniak zesiluje cytotoxické působení oxidantů z neutrofilů
- Jedna podjednotka ureázy má prokázané chemotaktické účinky na neutrofilly
- Ureáza aktivuje monocyty a ty pak produkují prozánětlivé cytokiny

Tyto zmíněné faktory patogenity mohou na rozdíl od mikroba pronikat i do hlubších vrstev sliznice a podporovat zde zánětlivou reakci a produkci prozánětlivých cytokinů (IL-1, TNF α , IL-12).

H. pylori má také vztah k autoimunitě: jeho povrchový lipopolysacharid vykazuje určitou podobnost s molekulou H⁺ K⁺ ATPázové pumpy v žaludku. Imunitní systém pak může likvidovat tyto vlastní iontové pumpy, protože je považuje za struktury patogenu – tomuto mechanismu se říká molekulární mimikry.



Lymeská borelióza: původce byl popsán až v roce 1981, ačkoli nálezy klinické, epidemiologické a bakteriologické byly známy už mnohem dříve. Nemoc sama o sobě má poměrně výrazné projevy, např. kožní, ale i orgánové a tyto projevy samostatně byly popisovány už na přelomu 19. a 20. století, ale nedávány do souvislosti s původcem. Např. migrující erytém - erythema migrans byl popsán už v roce 1909, neurologická formy boreliózy v roce 1922. V roce 1977 byly popisovány případy artritid v návaznosti na přisáté klíště a toto bylo popsáno jako nová nosologická jednotka (nosologie – nauka o třídění nemocí). Hlavním místem výskytu bylo okolí města Olda Lime v Connecticutu. Teprve v roce 1981 objevil W. Burgdorfer v zažívacím traktu klíštěte spirochéty. Stejně spirochéty poté byly prokázány i v bioptických vzorcích z erythema migrans a obojí bylo dáno do souvislosti.

Borelie se řadí do kmene *Spirochaetes*, který zahrnuje velkou skupinu pohyblivých bakterií způsobujících různá onemocnění (kromě borelií sem patří například původce syfilis *Treponema pallidum*).



Rod *Borrelia* se rozděluje na dvě skupiny:

- původce lymeské nemoci a příbuzné druhy (označované také jako komplex *Borrelia burgdorferi sensu lato*)

- původce návratné horečky a příbuzné druhy

Komplex *Borrelia burgdorferi sensu lato* v současnosti zahrnuje 22 druhů, z nichž 11 bylo zaznamenáno v Evropě. Mezi druhy, které jsou patogenní pro člověka patří např.

Borrelia burgdorferi sensu stricto (zejm. v Severní Americe) způsobuje hlavně artritidy

Borrelia garinii (zejm. v Evropě a v Asii) způsobuje hlavně neurologickou formu

Borrelia afzelii (zejm. v Evropě a v Asii) způsobuje hlavně kožní formu onemocnění

Borrelia valaisiana (vzácný patogen)

Borrelia lusitaniae (vzácný patogen)

Afinita jednotlivých druhů borelií k určitým orgánům je způsobena odlišnostmi v antigenní výbavě těchto druhů.

Kožní projevy boreliózy:

- erythema migrans červená skvrna, která se objevuje po několika dnech od přisátí klíštěte v místě kde bylo, ale jsou popisovány i případy, kdy se může objevit jinde na těle. Skvrna může mít velikost i 10 a více cm a může přetrvávat i po několik týdnů. Ve svém středu bývá skvrna světlejší barvy. Podobné skvrny se ale mohou objevit i po štípnutí komárem a nemají souvislost s boreliózou. Určité procento pacientů ale výskyt erythema migrans neudává, přestože se u nich borelióza potvrdí.



- boreliový lymfocytom červené až nafialovělé zduření na určitých místech jako ušní lalůček, nos, prsní bradavka, šourek. Vyskytuje se v rámci druhého stadia nemoci.



- kožní atrofická dermatitida je příznakem třetího stadia nemoci, postižena je nejčastěji kůže na rukách, dochází k jejímu ztenčení díky úbytku elastických vláken, změně pigmentace a postižení může přecházet i na klouby v daném místě.

Onemocnění probíhá zpravidla ve dvou stádiích. Pokud přejde do chronické fáze, tak se to popisuje jako třetí stadium. První stadium je charakteristické vznikem erythema migrans a příznaky podobné mírné chřipce, ve druhém stadiu - bývá akutní postižení některých orgánů např. kloubů, nervového systému nebo srdce a tyto akutní stavy může přecházet do chronicity – tedy třetího stadia. To zahrnuje chronické, obtížně léčitelné postižení příslušných orgánů. Postižené je zde způsobeno kromě vlastního působení patogenu také zánětlivou reakcí organismu, která se stává deregulovanou.

Nervová forma: borelie mají schopnost pronikat hematoencefalickou bariérou a interagovat s neurony nebo gliovými buňkami. V mozkomíšním moku lze stanovovat protilátky proti boreliím. V akutní fázi hovoříme o boreliové meningoencefalitidě s bolestmi hlavy, závratěmi, zvracením a obrnou lícního nervu (důležitý příznak). V chronickém třetím stadiu může

docházet k demyelinizaci, parézám a vzniku presenilní demence. U pacientů s roztroušenou sklerózou jsou často zachyceny i antiboreliové protilátky, takže se možná borelie mohou spolupodílet na její patogenezi.

Kloubní forma: postihuje svaly, klouby a svalové úpony. V prvním stadiu se objevují bolesti svalů a kloubů, ve druhém stadiu potom nastupují artritidy malých kloubů, později potom i postižení velkých nosných kloubů, často koleno, loket, rameno. V kloubech se objevují otoky, výpotky, bolestivost až znehybnění.

Srdeční forma: není příliš častá, je doprovázena arytmiemi z důvodu poruch vedení vzruchu.

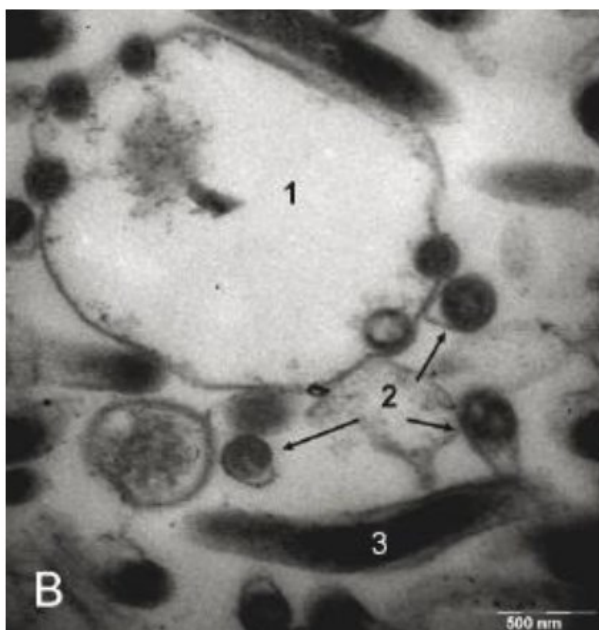
Léčba a prognóza: při včasném nasazení ATB léčby (erytromycinu nebo doxycyklinu), je prognóza dobrá, i po vyléčení ale u některých pacientů může přetrvávat dlouhou dobu pozitivní titr protilátek, pokud jsou pacienti bez potíží, nijak se to dál neřeší. Otázkou zůstává, proč u některých pacientů není infekce eliminována a přechází do druhého, resp. třetího stadia. Zdá se, že borelie v těchto případech působí jako spouštěč deregulace imunitních mechanismů a tkáně jsou pak poškozovány vlastním zánětlivou reakcí. Svou roli hrají asi i látky z klíštěte, např. ze slin, které mohou mít imunosupresivní a protizánětlivé působení. V poslední době se popisují tzv. cystické formy borelií, které vznikají v nepříznivých podmínkách při kultivaci, ale i v organismu po působení ATB nebo vlivem imunitního systému. Předpokládá se, že z těchto cystických forem se může borelie opět přeměnit na živé, pohyblivé formy a infekce by se tak mohla vracet i po léčbě.

Diagnostika: borelie se jen těžko kultivují, pro svůj růst vyžadují obohacené tekuté půdy a rostou neochotně a pomalu. Přímý průkaz tedy není vhodnou diagnostickou metodou. Tou je sérologie, konkrétně průkaz protilátek pomocí ELISA metody nebo Western blott. Stanovení protilátek však nemusí být 100% spolehlivé. Protilátky proti LB má cca 10% populace v ČR, což je hodně vysoké číslo a neodpovídá počtům ročně hlášených případů LB (okolo 4 – 4 500). Důvodem může být:

- zkřížená reaktivita v ELISA test proti jiným, třeba i nepatogenním spirochétám. Test v takovém případě reaguje i na jiné antigeny než na ten, který sledujeme.
- fakt, že borrelií se u nás vyskytuje víc druhů a rozdíly mezi nimi jsou dost velké – potom antigen, kterým je potažena jamka v ELISA testu nemusí některý druh zachytit, zejména ty méně běžné druhy
- je známo, že u osob, které trpí autoimunitními onemocněními je vyšší titr antiboreliových protilátek, hlavně u antifosfolipidového syndromu je to popisováno. Jedná se asi zase o nějakou formu křížové reaktivity autoprotiátek s antigenem na destičce.

Genom *B. burgdorferi* je vcelku dobře prozkoumán, je tvořen lineárním chromosomem, na kterém jsou geny pro základní životní funkce, jako transkripce, transkripce, geny pro transportní proteiny a energetický metabolismus.

Zbytek genomu tvoří plasmidy, ty jsou lineární nebo cirkulární. Na plazmidech jsou kódovány např. proteiny vnější membrány, tzv. OSP proteiny (outer surface protein), z nichž nejlíp prozkoumané jsou OspA a OspC. Při přechodu borelie z klíštěte do člověka nebo zvířete klesá OspA↓ a stoupá OspC↑. OspA je teoreticky použitelný pro konstrukci vakcíny, OspC se nejeví z tohoto pohledu jako vhodný, protože se dosti liší mezi jednotlivými druhy borelií.



Obrázek 3: *B. burgdorferi* pod transmisiím elektronovým mikroskopem: 1 - cysta, 2 - transverzální řez spirální formou, 3 - longitudinální řez spirální formou (Krupka and others, 2007)

Krupka, M., Raska, M., Belakova, J., Horynova, M., Novotny, R., and Weigl, E., 2007, Biological aspects of Lyme disease spirochetes: unique bacteria of the *Borrelia burgdorferi* species group: Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, v. 151, p. 175–186

Mycobacterium tuberculosis (též Bacil Kochův – BK) je středně dlouhá, aerobní tyčinka. Patří mezi obligátně patogenní mykobakteria a je původcem tuberkulózy. Je blízké *Mycobacterium bovis*, která způsobuje kravské neštovice. *M. tuberculosis* je asi nejvýznamnější bakteriální původce lidských onemocnění. Odhaduje se, že zhruba třetina celosvětové populace je infikována a ročně cca tři miliony lidí v důsledku této infekce umírají. Příbuzným patogenem – *Mycobacterium leprae* jsou infikováni desítky milionů lidí v celosvětovém měřítku.

V posledních letech roste výskyt a význam atypických forem mykobakteriálního onemocnění, které jsou způsobeny multirezistentními druhy. Naopak méně patogenní druhy způsobují onemocnění lidí s AIDS nebo jinak imunosuprimovaných osob.

Existuje také odlišná situace v rozvojovém a vyspělém světě: ve vyspělém světě výskyt a mortalita klesá v důsledku aktivní imunizace, léčby nemocných a zlepšení socioekonomických podmínek. V rozvojovém světě tento trend patrný není. Existují zde sice také různé vakcinační programy, nejsou ale většinou plošné a špatné socioekonomické podmínky přispívají k jejich nekomplexnosti. Zhruba od 90. let (a zvláště v posledních dvou letech) je velké riziko zavlečení nákazy díky migraci z rozvojových oblastí do vyspělých států.

Historie: první doklady na kosterních pozůstatcích, které svědčí o prodělaném onemocnění kostní formou TBC, pocházejí z neolitu. Výskyt onemocnění souvisí a akumulací lidí do větších center, protože patogen potřebuje určitou hustotu populace, aby se mohl šířit. Starověký lékař Galén popsal onemocnění TBC a předpokládal, že jsou rodové dispozice k němu. Ve

středověku TBC moc rozšířené nebylo, větší význam pak mělo v době renesance, což asi opět souvisí s urbanizací.

Původce onemocnění popsal Robert Koch v roce 1882, který také prováděl kultivace. Aktivní imunizace byla poprvé provedena 1921 a léčba antituberkulotiky začala 1944.

Z imunologického hlediska je TBC vlastně granulomatózní nemoc, nejčastěji jsou tvorbou granulomů postiženy plíce, ale také CNS, kosti, kůže, urogenitální soustava aj. Zdrojem infekce je nemocný člověk, šíří se kapénkovou infekcí, bakterie z kapének při vdechnutí pronikají až do alveolů v plicích. U 90 % nakažených alveolární makrofágy spolu s Tc lymfocyty infekci eliminují a jediné, co zůstává je pozitivita pacienta v tzv. tuberkulinovém testu. U cca 5 % nakažených se nepodaří infekci eliminovat po týdny až měsíce a vzniká tzv. primární forma TBC. Infekce se šíří do uzlin a krví je diseminována do dalších orgánů. Takový jedinec je zdrojem nákazy – uvolňuje mikroby do sputa. U asi 5 % nakažených se vytvoří granulom – ohraničená infekce, kdy v centru granulomu mohou být přítomny živé mikroby a při oslabení imunity se mohou aktivovat a znovu šířit.

U mykobakterií je unikátní to, že mohou přežívat uvnitř buněk monocyto/makrofágové řady a unikat působení cidních mechanismů. Usmrctvat mykobakterie mohou pouze aktivované makrofágy, k jejichž vzniku je potřebný INF γ a TNF α z Th lymfocytů. Toto jsou dva klíčové cytokiny. Nedostatečná tvorba těchto cytokinů a polymorfismus v genech, které je kódují může být jednou z příčin odlišné individuální reaktivity. Přítomnost mykobakterií v buňce blokuje fúzi fagosomu s lysosomen, tak brání vzniku fagosómů a uniká působení lysosomálních enzymů. Dalším důvodem individuálních rozdílů může být genetické nastavení jedince – jestli spíše tvoří protilátky (Th2 dráha) nebo má spíše sklony reagovat Th1 zánětlivou dráhou. Druhá možnost je pro obranu před mykobakteriemi lepší, ale silná zánětlivá reakce může poškozovat vlastní tkáň.

Tuberkulinový test: spočívá v intradermální aplikaci 0,1 ml roztoku PPD (purifikovaný proteinový derivát), což je purifikovaný extrakt z mykobakterií zvaný též tuberkulin. Aplikuje se na předloktí a po 48 hod se hodnotí indurace – měří se na milimetry. Podstatou této kožní reakce je tzv. reakce oddálené přecitlivělosti, kdy otok a zarudnutí v místě vpichu je způsobeno infiltrací monocytů, makrofágů a Th lymfocytů. Test nevypovídá o míře protekce proti mykobakteriím, pouze je dokladem toho, že se testovaný člověk setkal s mykobakteriemi, a to buď patogenními nebo i běžnými nepatogenními, které žijí např. v půdě. Obranná imunologická reakce proti mykobakteriím není zprostředkovaná protilátkami. Mykobakterie jsou intrabuněční mikrobi a organismus proti nim bojuje buněčnou zánětlivou reakcí, hlavně aktivovanými monocytů a makrofágů za přispění Th lymfocytů. Po imunizaci se u 90 % osob vytváří indurace v tuberkulinovém testu větší než 10 mm. Nejdříve je indurace patrná 2 týdny po kontaktu s patogenem.

K čemu je tedy tuberkulinový test dobrý? V populaci, kde se provádí nebo prováděla plošná imunizace proti TBC, tak celkem na nic. V ČR byla plošná imunizace zrušena v roce 2010, přičemž už v roce 2008 bylo zrušeno přeočkování. První dávka vakcíny se podávala několik dnů po narození – ještě v porodnici a přeočkování bylo cca ve 13 letech právě na základě výsledku z tuberkulinového testu (když byla indurace malá, přeočkovalo se). Právě argument, že se nejedná o protilátkovou imunitu byl jedním z těch, které podporovaly zrušení vakcinace.

V populaci, kde se neočkuje, pozitivita testu vypovídá o míře expozice lidí mykobakteriím a platí, že pokud je člověk silně pozitivní v tuberkulinovém testu, nemá smysl ho vakcinovat, protože oslabený vakcinační kmen se u takového člověka nemůže dostatečně pomnožit. Tomto ohledu by test měl smysl v rozvojovém světě před započítáním vakcinačního programu.

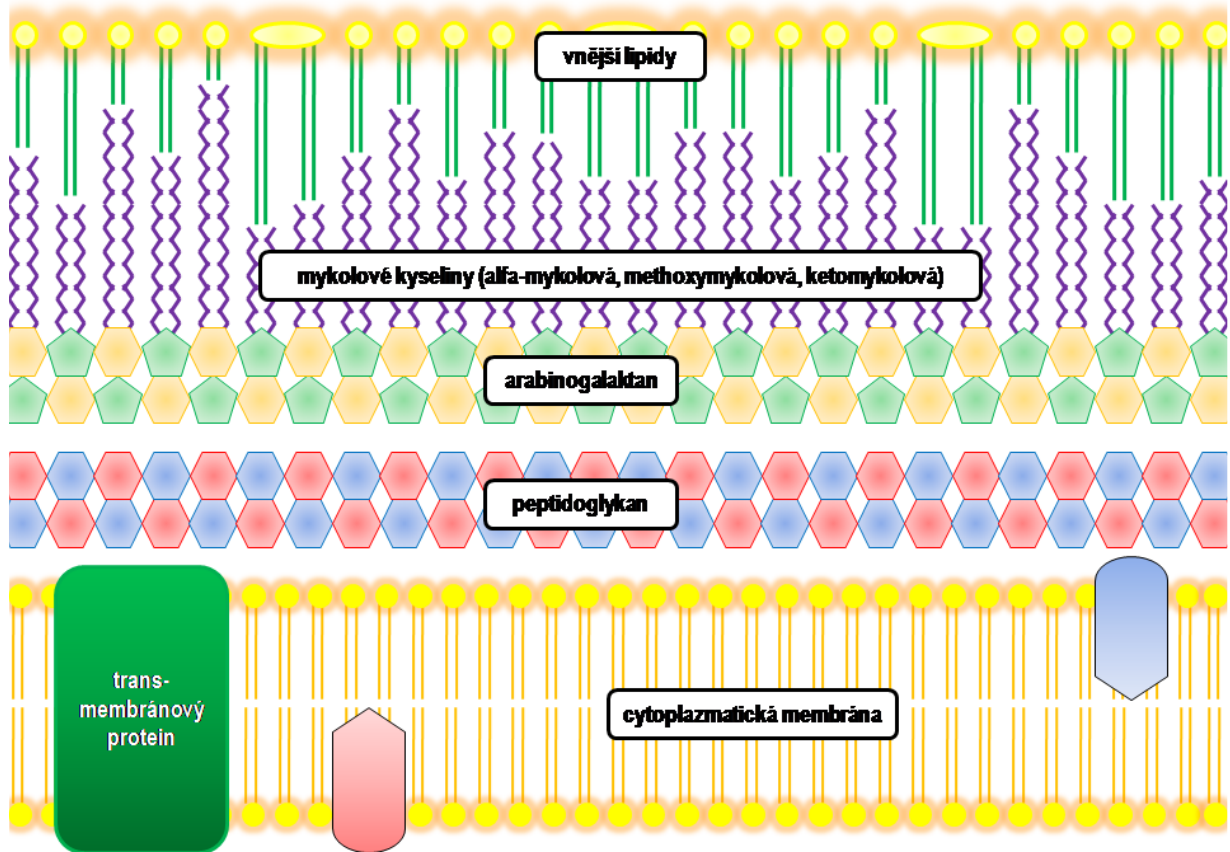
Vakcína proti TBC: vyvinuli ji francouzský bakteriolog Calmette a veterinář Guerin (odtud termín *kalmetizace* pro očkování proti TBC) dlouhodobým pasážováním *Mycobacterium bovis* na chudých půdách, čímž mikroba oslabili. Tento upravený mikrob byl nazvaný Bacillus Calmette -Guerin – BCG kmen. Poprvé byla vakcinace provedena v roce 1921 a prováděla se perorálně. V průběhu dalších let byla vakcína v celosvětovém měřítku aplikována miliardám osob. Výsledek však není uspokojivý, počet případů výrazně neklesá, přesto že patogen má takové charakteristiky, že by jeho eliminace měla být snadná (je to výlučně lidský patogen, nemá mezihostitele a není u něj tzv. přírodní ohniskovost).

Proč je tedy vakcinace tak málo účinná:

- Liší se vlastnosti vakcinačních kmenů užívaných v jednotlivých státech nebo oblastech světa. Za cca 100 let pasážování a udržování BCG kmene v laboratorních podmínkách se změnil jeho genom – molekulárně biologickými analýzami bylo zjištěno, že rozdíl mezi *M. tuberculosis* a BCG kmenem je asi 100 genů, které v původním vakcinačním kmeni buď vůbec nebyly, nebo zmizely v průběhu pasážování. Tento problém by vyřešilo vyvinutí nového vakcinačního kmene.
- Způsob a časování vakcinace: čím dříve je vakcinace provedena tím lépe, když se už člověk setká s mykobakteriemi v prostředí (jsou časté ve vodě, v půdě zejména v tropech) oslabený vakcinační kmen se nepomnoží, ale normální *M. tuberculosis* se pomnožit může. Neúčinnost vakcinace může být také způsobena malnutricí nebo infestací parazity.
- Individuální imunologická aktivita – liší se u jednotlivých osob a je také závislá na věku. Z imunologického hlediska je obrana proti mykobakteriím záležitost Th1 zánětlivé reakce, ta je v době brzy po narození málo aktivní. Z tohoto pohledu by bylo lepší očkovat později, to už ale zase stoupá míra expozice environmentálním mykobakteriím. Nejvyšší aktivita Th1 dráhy je v časně dospělosti, tím se vysvětluje těžký průběh a vysoká smrtnost na TBC v této věkové kategorii (Jiří Wolker), Th1 zánětlivá reakce má totiž velký potenciál kromě boje proti patogenu také poškozovat vlastní tkáň a vymykat se regulaci.

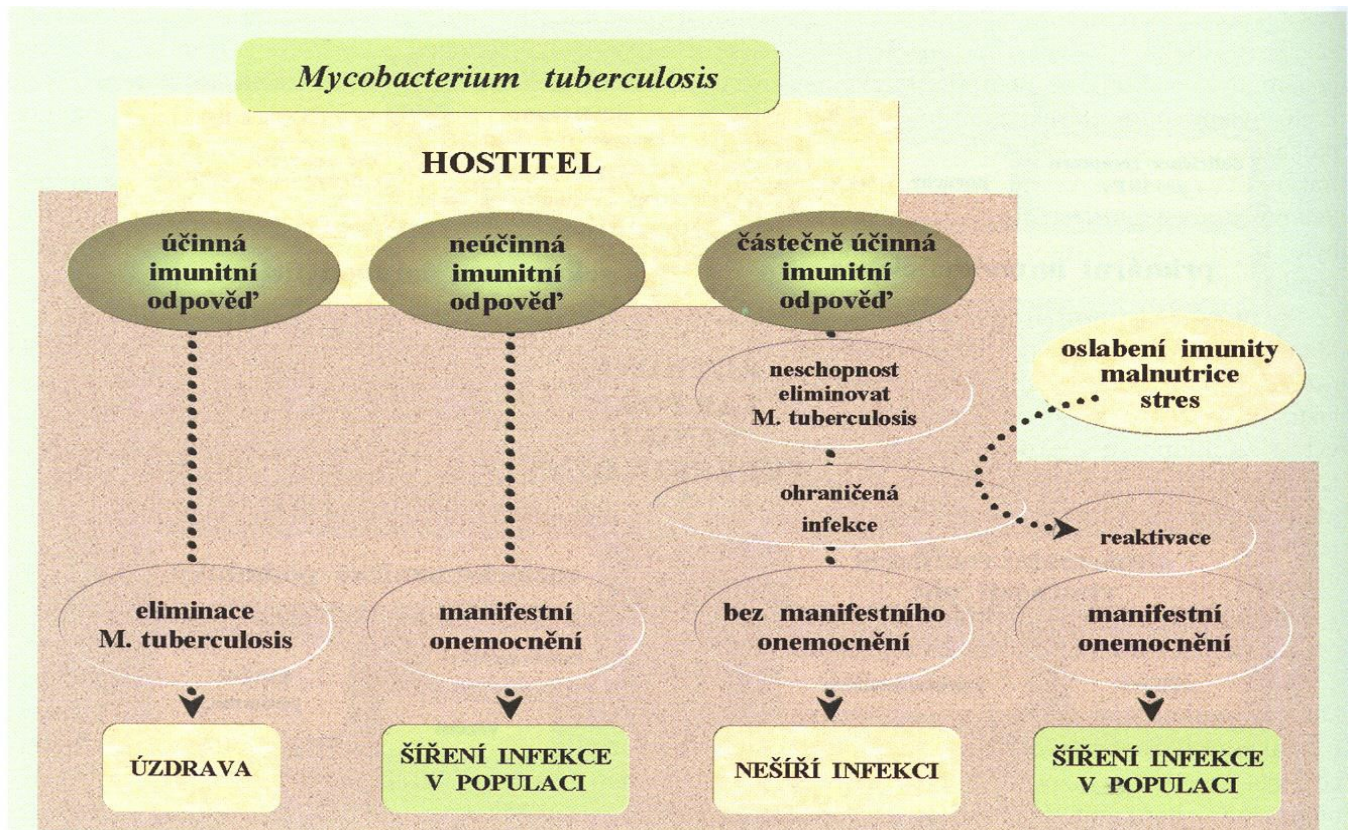
Je prokázáno, že aktivní imunizace chrání vcelku dobře před tzv. tuberkulózou dětského věku, která je lokalizována mimo plíce, často v CNS. Málo ale chrání před plicní formou TBC u dospělých. Dál je známo, že časná aplikace vakcíny v raném věku mobilizuje imunitní systém a zlepšuje odpověď na jiné vakcíny (např. proti hepatitidě). Asi dochází ke stimulaci maturace dendritických buněk, které jsou u novorozenců málo aktivní. Možná důležitější, než protekce proti TBC je u vakcíny modulace imunitního systému. *Na tomto místě už dlouho mám v přípravách k přednáškám poznámku: „je to ale pozitivní?“ Odpověď možná přinesla koronavirová doba, kdy se ukazuje, že v zemích, kde plošná vakcinace proti TBC byla nebo stále je, tak je nižší smrtnost na covid...*

Unikátní stavba buněčné stěny mykobaktérií:
hodně lipidů !
kyselina mykolová
arabinogalaktan
lipoarabinomanan



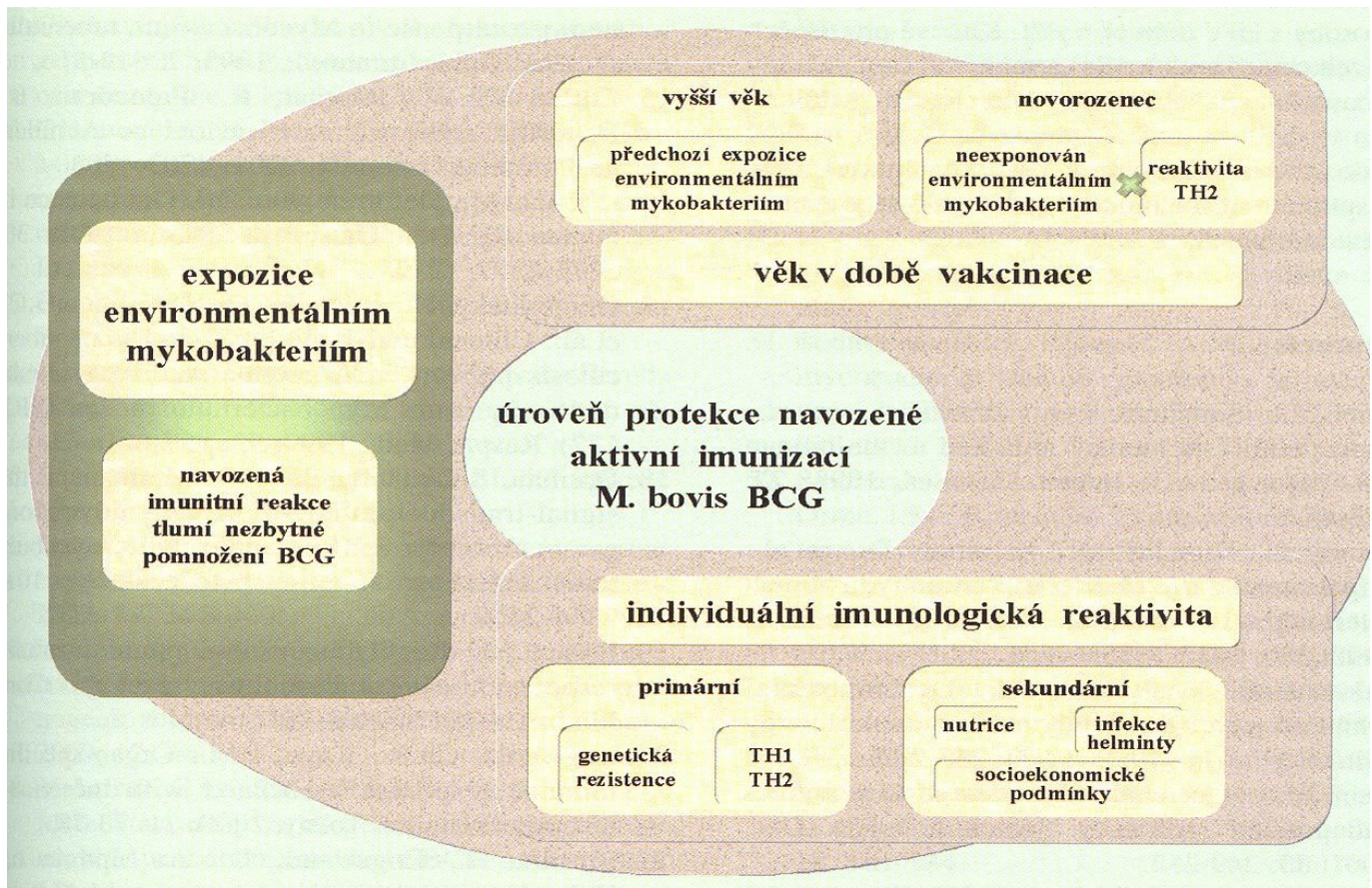
<http://mikrobiologie.xf.cz/files/atb-bunecna-stena.doc.html>

Interakce *M. tuberculosis* s hostitelem:



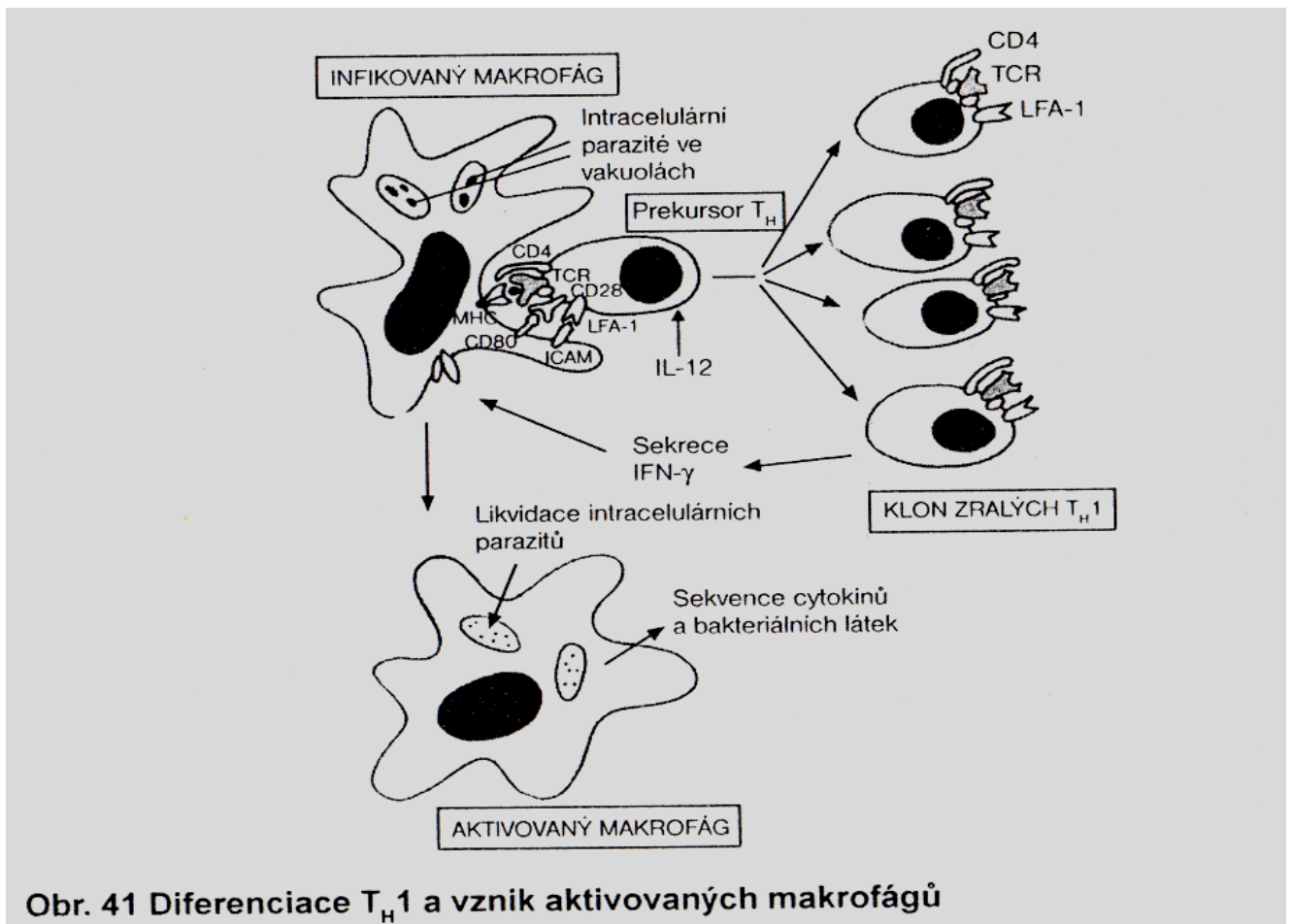
Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, 2004

Problematika vakcinace proti TBC:



Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, 2004

Imunitní reakce typu Th1 zánětlivá reakce – důležitá pro likvidaci intracelulárních bakterií



Obr. 41 Diferenciace T_H1 a vznik aktivovaných makrofágů