

# Spirochety

- Štíhlé, pohyblivé, ohebné, vlnící se, gramnegativní bakterie
- Charakteristický tvar ve tvaru vývrtky (šroubovitý)
- Mohou být aerobní, anaerobní nebo fakultativně anaerobní
- Patogenní spirochety patří do 3 rodů: *Treponema*, *Borrelia* a *Leptospira*

# Syphilis – etiologie a přenos

- Spirocheta ***Treponema pallidum*** (tenká, spirálovitá (0,1 až 0,5 × 5 až 20 μm), gramnegativní bakterie
- Na každém konci má 3 periplasmatická bičíky.
- Tyto spirochety nerostou v bezbuněčných kulturách
- Jsou **příliš tenké na to, aby byly viditelné pod světelným mikroskopem** po barvení podle Grama nebo Giemsy, ale je možné je pozorovat pomocí mikroskopie v tmavém poli nebo fluorescenční mikroskopie
- Poznámka: příbuzný poddruh *T. pallidum* subsp. *endemicum* způsobuje endemickou syphilis (bejel); poddruh *T. pallidum* subsp. *pertenue* způsobuje yaws; a *T. carateum* způsobuje pintu. Bejel, yaws a pinta jsou nepo pohlavně přenosná onemocnění

# Faktory virulence

- **Klasické faktory virulence obecně nejsou známy**
- Proteiny vnější membrány podporují adherenci k hostitelským buňkám
- Hyaluronidáza může usnadňovat perivaskulární infiltraci
- **Destrukce tkáně je primárně důsledkem imunitní reakce hostitele na infekci**

# Syphilis - patogeneze

- původce proniká **do organismu drobnými oděrkami** (kůže, sliznice)
- lokální pomalé množení – infiltrace ložiska plazmatickými buňkami a makrofágy (endarteritida)
- inkubační doba – 3 týdny
- stadia
- **1. primární** (kožní léze – tvrdý **vřed /chancre/nebolestivý**)
- **2. sekundární** (kožní projevy se šíří po těle – vyrážka, papilomům podobné léze v anogenitální či ústní oblasti – condylomata lata)
- **3. terciární** – pozdní fáze (postižení může zahrnovat jakékoli tkáně, dochází k lokálnímu množení a destrukci tkáně – arteritida, demence, slepota; v kostech či kůži se mohou vyskytovat granulomatózní ložiska /gumata/)
- Poznámka: ne všichni pacienti projdou všemi stadii; po 1. a 2. stadiu pacienti obvykle zůstávají bez příznaků onemocnění

# Syfilis – kongenitální

- **Nitroděložní infekce** mohou vést k závažnému onemocnění plodu, které může vyústit v **latentní infekci, multiorgánové malformace** nebo **smrt plodu**.
- **Treponema pallidum** je silný biologický teratogen!!!
- **Většina infikovaných novorozenců** se rodí **bez klinických příznaků** onemocnění; následně se však rozvíjí rinitida, po níž následuje rozsáhlý makulopapulární exantém s olupováním kůže. U neléčených dětí, které přežijí počáteční fázi onemocnění, se často vyskytují **malformace zubů a kostí, slepota, hluchota a kardiovaskulární syfilis**.

# Syfilis – kongenitální

- Nejvyšší teratogenní potenciál – tedy nejvyšší riziko vertikálního přenosu a závažných následků pro vývoj – vykazuje onemocnění v primárním či sekundárním stadiu syfilis a v případě, že k infekci dojde během prvního nebo druhého trimestru těhotenství (míra přenosu 60–100 %).

## Shrnutí

- **Časná infekce (1./2. trimestr):** katastrofální následky pro vývoj, např. fulminantní forma vrozené syfilis, závažné abnormality kostí, hepatosplenomegalie nebo nitroděložní úmrtí plodu.
- **Pozdní infekce (3. trimestr):** Ačkoli míra přenosu zůstává u neléčené matky velmi vysoká, plod se často rodí bez příznaků, jelikož organogeneze je již dokončena. Bez léčby se však příznaky rozvinou po narození.

# Syphilis – primární stadium



# Syphilis – sekundární stadium



© Elsevier. Murray: Medical Microbiology 5e - [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)

## 1. Primární stadium

- **Inkubační doba:** příznaky se objevují 10 až 90 dní po nákaze.
- **Příznaky:** V místě vstupu infekce (genitálie, konečník nebo ústa) vzniká tuhý, okrouhlý a obvykle nebolestivý vřed, tzv. tvrdý šankr. Často dochází ke zduření okolních lymfatických uzlin.
- **Infekčnost:** vysoce nakažlivé; vřed se během 3 až 6 týdnů sám zahojí, avšak bez léčby infekce přetrvává.

## 2. Sekundární stadium

- **Průběh:** začíná několik týdnů až měsíců po vymizení primárního vředu (šankru).
- **Příznaky:** Často se objevuje nesvědívá vyrážka, zahrnující charakteristické hrubé, červenohnědé skvrny na dlaních a ploskách nohou. Mezi další příznaky patří vředy na sliznicích, horečka, bolest v krku, ložisková ztráta vlasů a únava.
- **Infekčnost:** V této fázi je onemocnění vysoce nakažlivé. Příznaky nakonec bez léčby odezní.

### 3. Latentní stádium

- Následuje **po sekundárním stadiu a může trvat roky.**
- **Příznaky:** Nejsou přítomny žádné viditelné známky ani příznaky, avšak bakterie v těle přetrvávají v klidovém stavu. Onemocnění lze odhalit pouze pomocí sérologických testů.
- **Infekčnost:** Obecně není přenosné běžným kontaktem, ačkoli těhotné ženy mohou stále přenést vrozenou syfilis na plod. Příznaky časem vymizí i bez léčby.

### 4. Terciární (pozdní) stádium

- **Rozvíjí se 1 až více než 30 let po prvotní nákaze,** pokud onemocnění není léčeno.
- **Příznaky:** způsobuje závažné a život ohrožující poškození vnitřních orgánů, včetně mozku, nervů, očí, srdce a cév (kardiovaskulární syfilis a neurosyfilis), a také vznik destruktivních tkáňových ložisek zvaných gumata.
- **Infekčnost:** V tomto stadiu obvykle není přenosné na sexuální partnery, avšak představuje extrémní riziko pro zdraví.

Pozdní kardiovaskulární komplikace neléčené syfilidy, která způsobuje zánět, oslabení a případné vydutí (aneurysma) hlavní tepny.



Obr. vlevo: útvar na přední stěně hrudníku; vpravo: transtorakální echokardiografie znázorňující závažnou aneuryzmatickou dilataci oblouku aorty a extraluminální aneuryzmatický vak (pseudoaneurysma) s úzkým krčkem, přičemž průtok je ohraničen útvarem, který se jeví jako trombus (zdroj: Rev Port Cardiol. 2015;34(11):691.e1–691.e4).

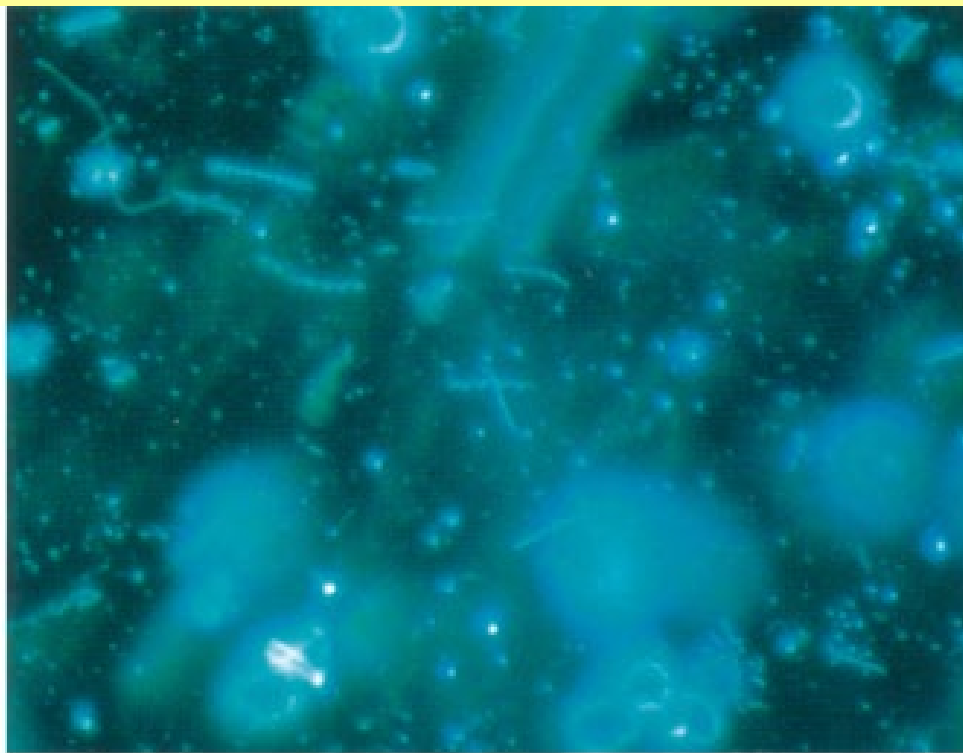
Poznámka: Infekce bakterií *Treponema pallidum* způsobuje poškození cév především prostřednictvím obliterujících endarteritidy, aktivace endotelu a narušení hematoencefalické bariéry.

# Syphilis – terciární stadium



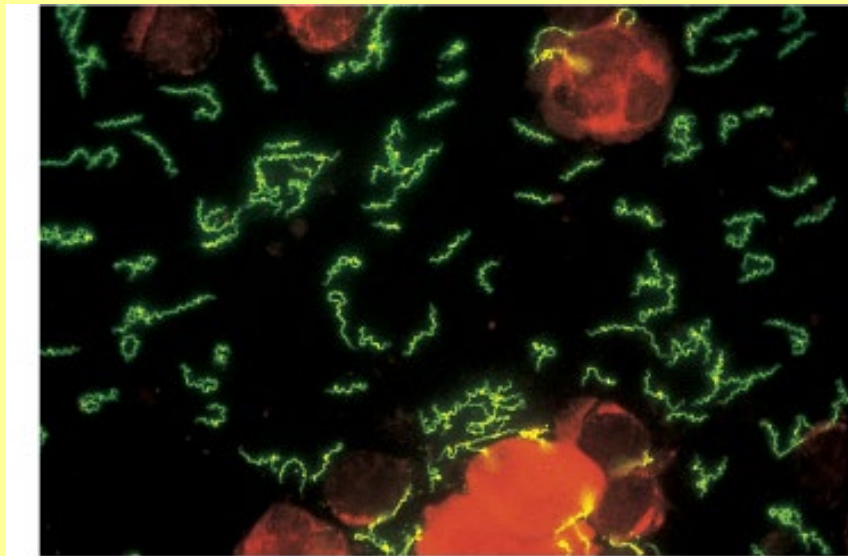
# Mikrobiologická diagnostika - mikroskopie

- Diagnózu primárního, sekundárního nebo vrozeného syfilis lze rychle stanovit vyšetřením exsudátu z kožních lézí v zorném poli s temným pozadím.



# Fluorescenční microscopie – průkaz Ag

- spirochetes **do not survive transport to the laboratory,** and **tissue debris can be mistaken for spirochetes.** Material collected from oral and rectal lesions should not **be examined because nonpathogenic spirochetes can contaminate the specimen.** A more useful test for detecting *T. pallidum* is the **direct fluorescent antibody test**



# Serologie, netreponemové testy

• **Netreponemové testy stanovují protilátky třídy IgG a IgM (označované také jako reaginy).** Antigenem používaným v těchto testech je kardiolipin, který se získává z hovězího srdce. Mezi nejčastěji využívané testy patří test VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) a test RPR (Rapid Plasma Reagin).

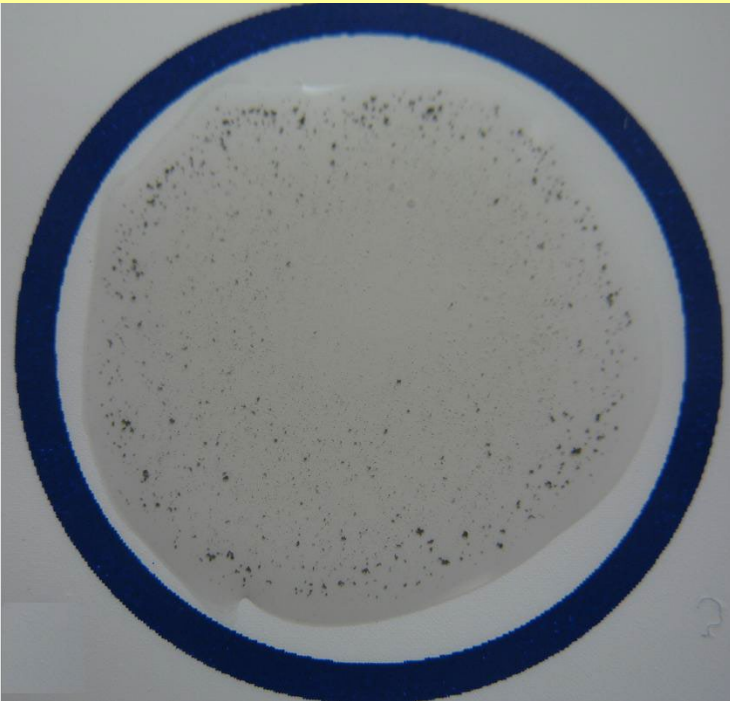


Fig. Positivní kardiolipinový test (aglutinace)

# Serologie, treponemové testy

- Mezi nejčastěji používané testy patří test absorpce fluorescenčních treponemových protilátek (FTA-ABS), což je **nepřímý imunofluorescenční test**. Jako **antigen** slouží ***T. pallidum*** imobilizované na skleněných podložních sklíčkách. Na sklíčko se **nanáší sérum pacienta**, které bylo předem smícháno s extraktem z nepatogenních treponem. K detekci přítomnosti specifických protilátek v séru pacienta se následně **přidávají** antihumánní **protilátky značené fluoresceinem**.
- Dalším testem je **aglutinační test s částicemi a *T. pallidum*** (TP-PA). TP-PA je mikrotitrační aglutinační test, při němž se želatinové částice senzibilizované antigeny *T. pallidum* mísí s různými ředěními séra pacienta. V případě přítomnosti protilátek dochází k aglutinaci částic. V poslední době byla vyvinuta řada specifických enzymových imunoanalýz (EIA), které vykazují citlivost a specifitu srovnatelnou s testy FTA-ABS a TP-PA.

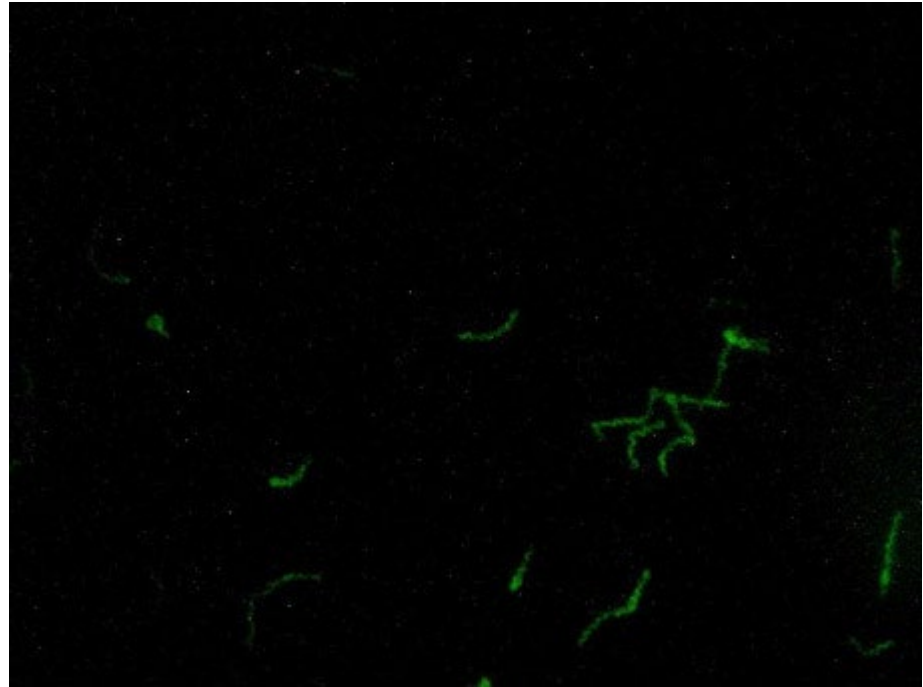
# Laboratory dg – serology, treponemal tests

- Mezi nejčastěji používané testy patří test absorpce fluorescenčních treponemových protilátek (FTA-ABS).



Postup:

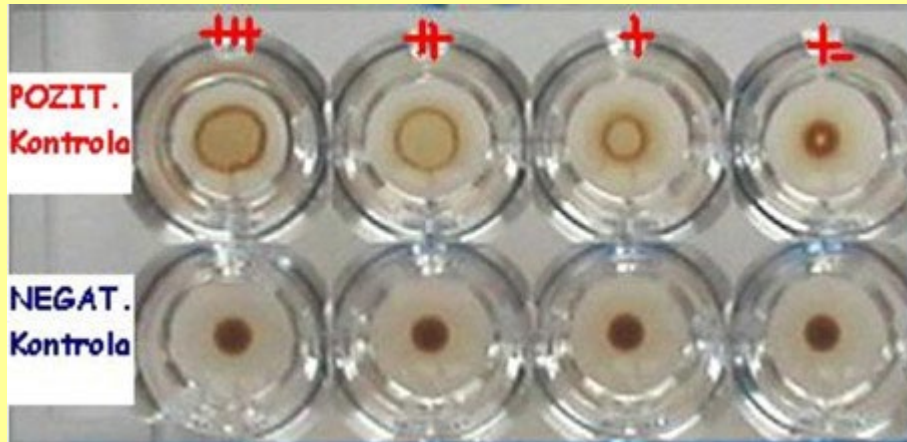
1. Ředění sér pacientů (protilátky) a nanesení na podložní sklíčko s fixovaným antigenem
2. Přidání protilátek proti lidským imunoglobulinům značených fluorochromem
3. Pozorování pomocí fluorescenčního mikroskopu



Positivní výsledek

# Serology, treponemové testy

- Test aglutinace séra pacienta s antigenem *Treponema pallidum* (TP-PA). Test TP-PA je mikrotitrační aglutinační test. Částice želatiny (nebo erytrocyty v případě testu TPHA) senzibilizované antigeny *Treponema pallidum* se smíchají s ředěným sérem pacienta. Jsou-li přítomny protilátky, dochází k aglutinaci částic. V poslední době byla vyvinuta řada specifických enzymových imunoanalýz (EIA), které vykazují citlivost a specifitu srovnatelnou s testy FTA-ABS a TP-PA.



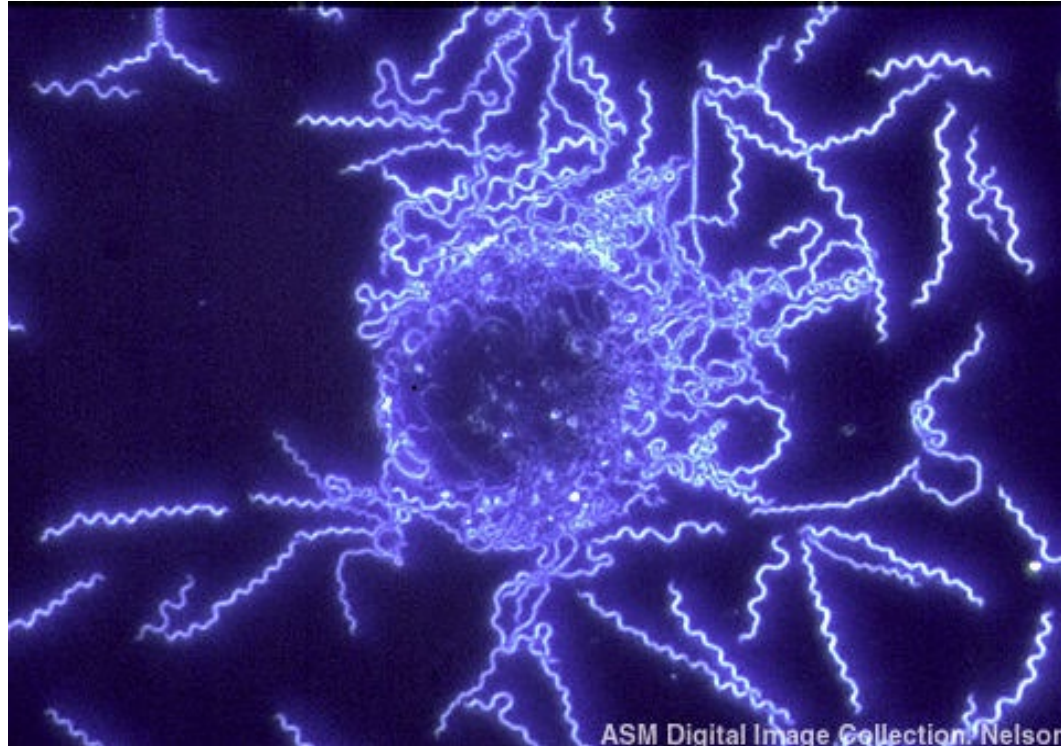
TPHA test

# Léčba, prevence, kontrola

- Lékem první volby je **penicilin**.
- Pro časná stadia se používá **benzathin-penicilin** s prodlouženým účinkem.
- Pro léčbu vrozené a pozdní formy syfilis se doporučuje **penicilin G**.
- Jako **alternativní antibiotika** pro pacienty alergické na penicilin lze použít **tetracyklin a doxycyklin**. K léčbě neurosyfilis lze použít výhradně penicilin; pacienti s alergií na penicilin proto musí podstoupit desenzibilizaci. Totéž platí pro těhotné ženy, které by neměly být léčeny tetracykliny. Vzhledem k tomu, že nejsou k dispozici ochranné vakcíny, lze syfilis zvládat pouze uplatňováním zásad bezpečného sexu a důsledným vyhledáváním i léčbou sexuálních partnerů osob s prokázanou infekcí.



# Lymeská borelióza



Tento snímek zachycuje spirochetu *Borrelia burgdorferi* v zorném poli mikroskopu s temným polem; vzorek pochází z laboratorní kultury tohoto organismu. Mikroskopie v temném poli umožňuje zviditelnění těchto těsně stočených spirálovitých bakterií, které se špatně barví běžnými bakteriálními barvivý (Nelson, American Society for Microbiology).

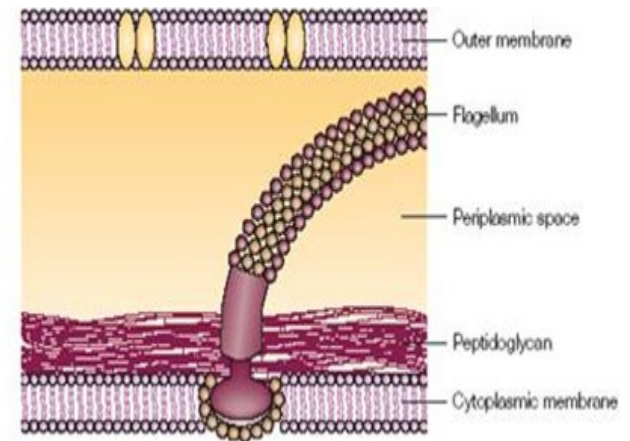
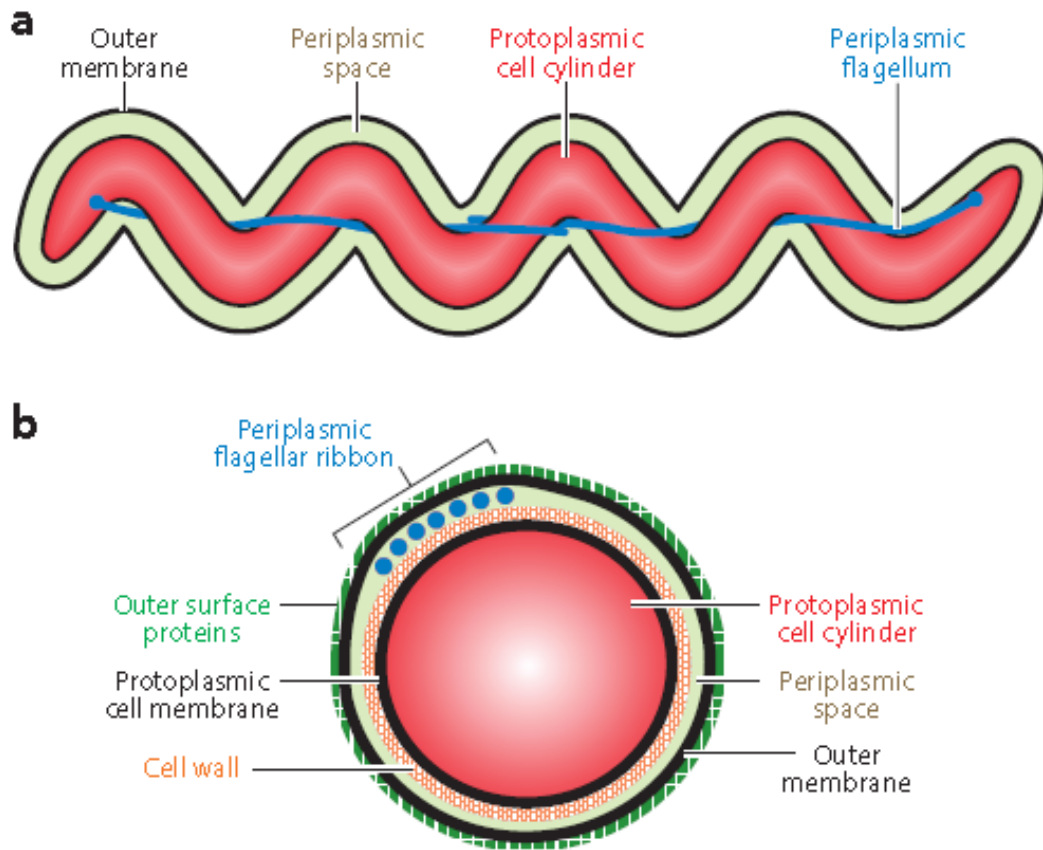
# Borelióza - historie

- \* 1764 – reverend Walker (Skotsko) poprvé popsal erythema migrans (EM) a přenašeče – klíště
- \* 1883 – acrodermatitis chronica atrophicans (zánět kůže na akrálních částech těla – např. prstech, projevující se ztenčenou modravou kůží); německý dermatolog Buchwald, Vratislav (Breslau)
- \* 1909 – švédský dermatolog Afzelius popsal příznaky EM
- \* 1976, Steere – epidemická artritida, Lymeská nemoc (Connecticut, USA); prokázána infekční povaha, původce neznámý
- \* 1981 – původce popsán Burgdorferem (Švýcarsko)

# **Taxonomie a vlastnosti *Borrelia burgdorferi***

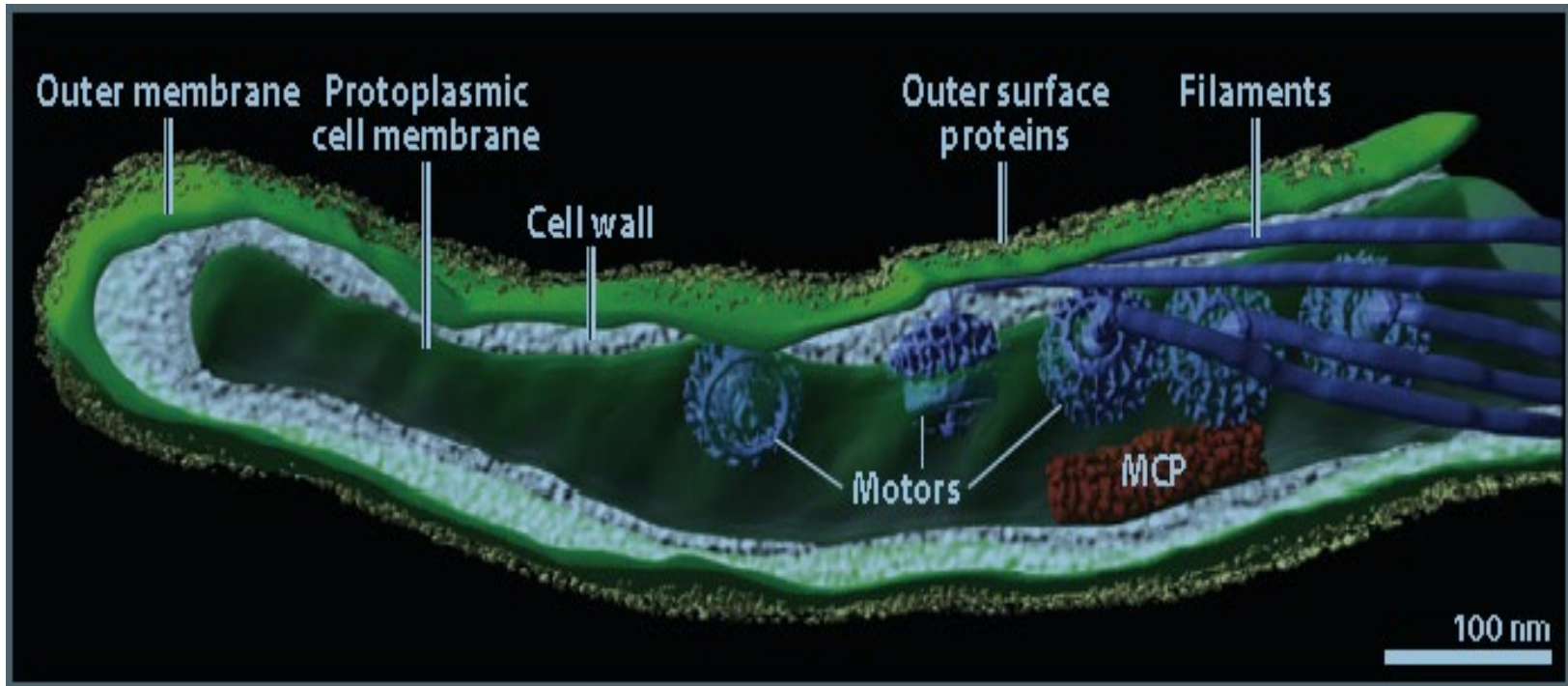
- \* Skupina - **Spirochety**
- \* **spirálovitý tvar** (4–15 závitů), gramnegativní, rozměry 0,2–0,5 × 5–30 μm
- \* **pohyblivost** – rotace kolem osy, pohyb připomínající vývrtku
- \* **generační doba: 7–20 h**
- \* **morfologie**
  - amorfnní povrchová vrstva (S)
  - periplazmatický prostor (3–8 bičíků)
  - malý lineární chromozom (cca 1000 kb)
  - plazmidy: 17–21 lineárních nebo kruhových (nesou geny např. pro povrchové proteiny OspA a OspB)

# Morfologie



- (a) Podélný řez – schéma typické spirochety. Bičíky uprostřed jsou zakryté.
- (b) Příčný řez – schéma *Borrelia burgdorferi*. (Charon et al., Annu. Rev. Microbiol. 2012. 66:349–70).

# Apikální morfologie buňky Borellia



Kryo-elektron tomografie (ref: Charon et al., Annu. Rev. Microbiol. 2012. 66:349–70)

# Původce lymské boreliózy

- \* ***Borrelia burgdorferi sensu stricto*** (často USA, Evropa) – převážně postižen pohybový aparát
- \* ***Borrelia burgdorferi sensu lato***
  - ***Borrelia afzelii*** (Evropa, Asie...), nejčastěji postižena kůže
  - ***Borrelia garinii*** (Evropa, Asie...), nejčastěji postižen nervový systém
- \* **Infekce přenášená klíšťaty:** 30–50 % pacientů (čeleď Ixodidae – *I. ricinus*, *I. persulcatus*– východní Evropa, Asie; *I. scapularis*– USA)

Izolována rovněž z jiných klíšťat a krev sajícího hmyzu.

Poznámka: V České republice mírně převažuje *Borrelia afzelii* nad *Borrelia garinii*, a to jak v populaci infikovaných klíšťat, tak v klinických nálezech. Mýtus, že lymeskou boreliózu přenášejí komáři, byl rozsáhlými studiemi definitivně vyvrácen. Výzkum potvrdil, že komárům rodu *Culex* chybí biologická schopnost tuto bakterii přenášet.

## *Ixodes ricinus* – životní cyklus

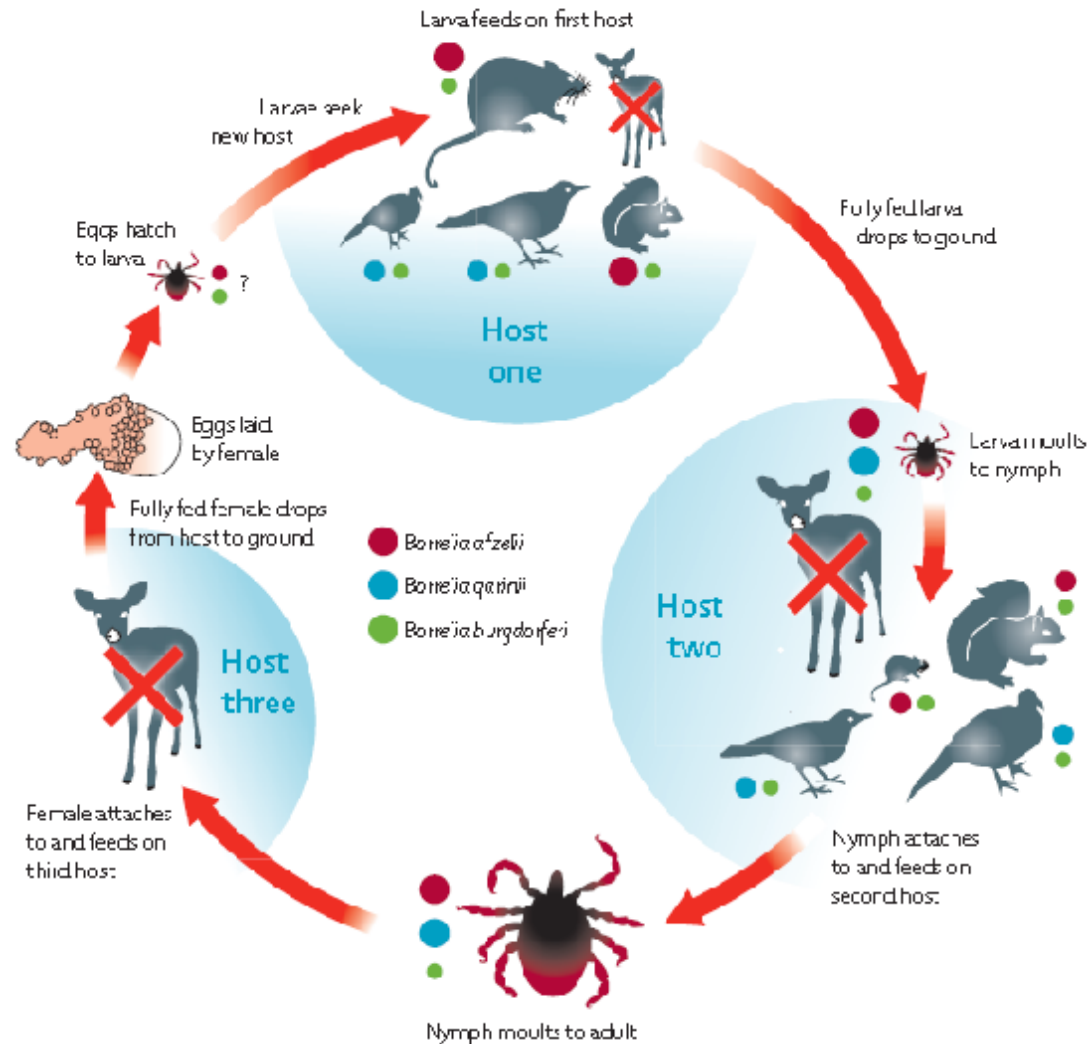


Zleva: larva (6 nohou), nymfa (8 nohou), dospělec (8 nohou) – samice (vakovitý útvar, který po přísátí zvětší svůj objem až stonásobně oproti původní hmotnosti), dospělec – samec (zdroj: Stanek, Lancet, 2012, 379:461)

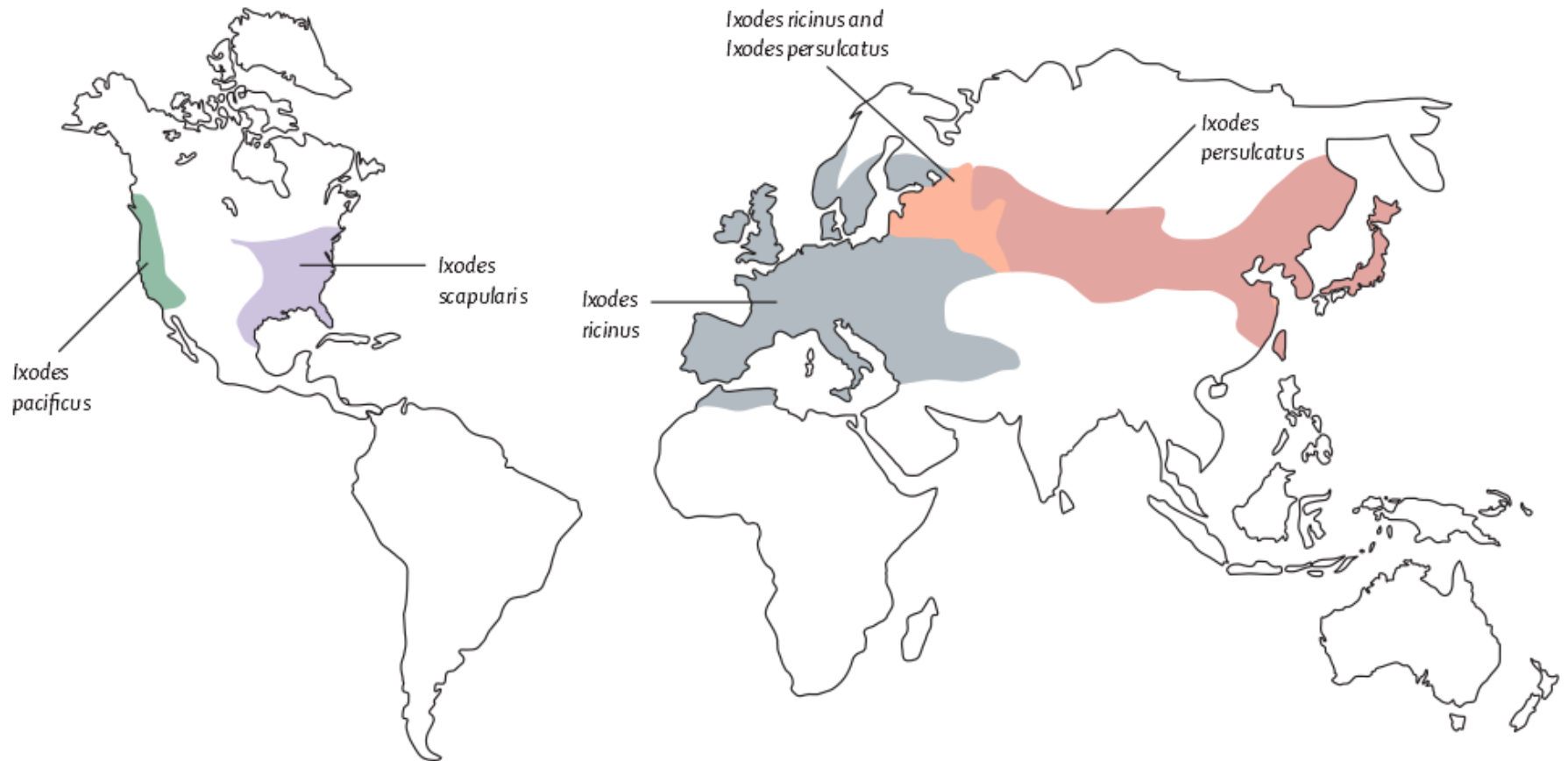
# Cyklus klíštěte

- \* **Vývoj trvá průměrně 2 roky**; v každém vývojovém stadiu saje krev pouze jednou (na jiném hostiteli):
- \* **vajíčka** – kladena na jaře (nebo na podzim), stadium larvy trvá 6–8 týdnů
- \* **larvy** – 0,8 mm, šedožluté, sají 3–6 dní, hostiteli jsou hlodavci
- \* **nymfy** – 2. rok, 1,2 mm, sají 3–6 dní (např. ježci, veverky, ptáci...)
- \* **dospělci (imaga)** – po 3 měsících; samec 2,5 mm, samice 4 mm; sají krev (např. na vysoké zvěři); po páření a sání krve (6–14 dní) následuje po 8–30 dnech kladení vajíček (2 000 kusů)

# Cyklus *B. burgdorferi* sensu lato genomospecies

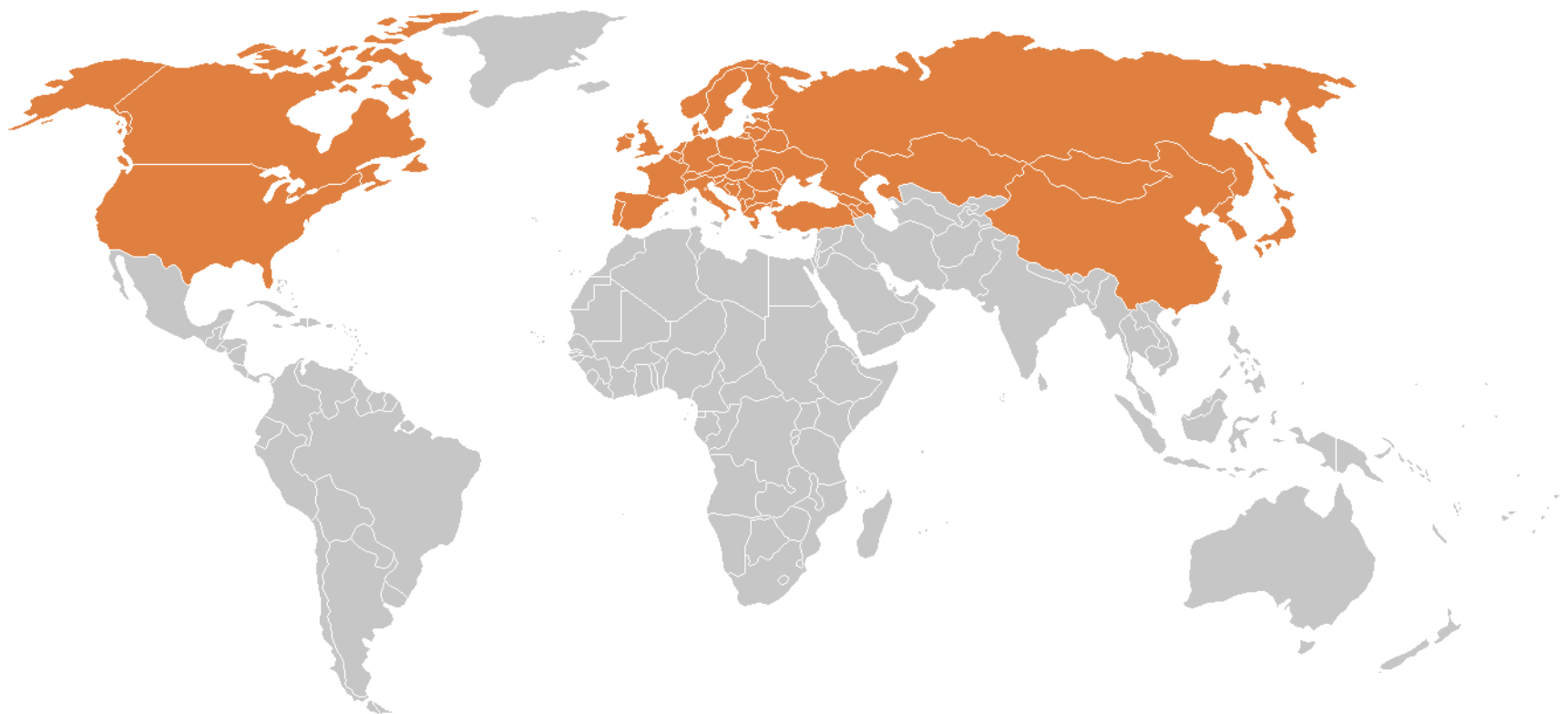


# Vektor (*Ixodes ricinus* species komplex)



Stanek, Lancet, 2012, 379:461

# Distribuce infekce



Lymeská borrelióza je endemická v mírných zeměpisných šířkách severní polokoule.

# Stadia infekce

|               |            |                                                                                                         |                                                                                      |
|---------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Časné</b>  | 1. stadium | <b>erytema migrans (EM)</b><br>příznaky podobné<br>chřipce<br>lymfadenitida                             |   |
|               | 2. stadium | <b>akutní neuroborrelióza</b><br><b>kardiologické příznaky</b><br>lymfocytom                            |                                                                                      |
| <b>Pozdní</b> | 3. stadium | <b>chronická neuroborelióza</b><br><b>chronická artritida</b><br>acrodermatitis chronica<br>atrophicans |  |

## Material a diagnostika

- **erytema migrans** – microbiological diagnostics are not performed
- **CSF, blood, joint puncture, other tissue – PCR** (culture low sensitivity)
- **microscopy** – dark-field (tick analysis), electron microscopy (clinical material after concentration using centrifugation – plasma, puncture, CSF)

# Serologie

- \* **Nejvýznamnější** pro diagnostiku, detekci **IgM a IgG** (3–6 týdnů po infekci, časně IgM)
- \* **Antigeny** – celobuněčné, rekombinantní; obvykle se využívá metoda ELISA
- \* Nepřímá imunofluorescence (IFA) – subjektivní interpretace
- \* **Western blot** – nejvyšší specifita, měl by potvrdit pozitivní výsledky metody ELISA

# Terapie

- V závislosti na stadiu a symptomatologii, obvykle **14–21 dní**
- Index protilátek (AI): **porovnání hladin protilátek v mozkomíšním moku a v krvi** (s využitím párového vzorku séra). Tento výpočet slouží k **detekci intratekální syntézy protilátek**, což znamená, že **protilátky jsou aktivně vytvářeny přímo v centrálním nervovém systému**, a nikoli pouze přestupují z krve přes hematoencefalickou bariéru.
- **akutní, mírné neurologické a kardiologické příznaky** – muži, ženy (netěhotné) a starší děti (> 8 let): **tetracykliny** (tetracyklin, doxycyklin)
- **děti, těhotné ženy** – **amoxicilin** nebo **penicilin**
- **alternativy** – **makrolidy** (např. azithromycin)

## Terapie

- **Pozdní neurologické stadium**, závažná artritida nebo závažné kardiální příznaky – **PNC G i.v. nebo ceftriaxon**
- **doxycyklin** – akutní stadium, prevence přechodu do chronického stadia
- **amoxicilin** – těhotné a kojící ženy, děti do 8 let
- **azitromycin** – kojící ženy
- **ceftriaxon (cefalosporin 3. generace)** – výborný průnik do mozkomíšního moku a synoviální tekutiny (i.v. 1× denně)
- **PNC G** – megadávky (2. a 3. stadium); nevýhody: riziko alergizace, flebitida, slabý průnik přes hematoencefalickou bariéru

## ***Borrelia reccurentis***

- **Původce návratné horečky (několik cyklů zotavení následovaných relapsem, způsobeným schopností měnit povrchové proteinové antigeny)**
- **Patogeneze** – obvykle epidemické onemocnění přenášené z člověka na člověka šatními vešmi (rozvojové země); při absenci léčby dosahuje smrtnost až 30 %
- **Příznaky** – inkubační doba 3–10 dní, febrilní fáze (spirochety v krvi) – náhlý nástup vysoké horečky, bolest hlavy, bolest svalů; následuje zotavení trvající 4–10 dní a poté recidiva (až 10 opakování) s klesající závažností

## ***Borrelia reccurentis***

- **Diagnosis**

Giemsa stained spirochetes in the blood during febrile stage

- **Treatment**

tetracyclin, macrolides, penicillin

**Prevention** – by protecting against lice, no vaccine is available

## ***Leptospira interrogans***

- Původce leptospirózy (**Weilovy choroby**), celosvětový výskyt
- **Citlivá na vyschnutí** a široké spektrum dezinfekčních prostředků
- Epidemiologie a patogeneze
- **Zoonóza**; k náhodné nákaze lidí dochází především prostřednictvím vody nebo potravin kontaminovaných zvířecí močí; výskyt ve vyspělých zemích je velmi nízký
- **Vstupní brána – drobné oděrky či spojivka**, ale i **neporušená kůže**, kterou dokážou leptospiry aktivně proniknout

## ***Leptospira interrogans***

- **Klinický význam**
- **1–2 týdny po infekci – spirochety v krvi, horečka, příznaky po týdnu ustupují, bifázický průběh onemocnění, opětovný výskyt spirochet – invaze do jater, ledvin a CNS, způsobující žloutenku, krvácení, nekrózu tkání a/nebo aseptickou meningitidu (druhé stadium – 3 a více týdnů) (úmrtnost až 10 %).**

# Microbiologická diagnostika

## Testování v počáteční fázi (první týden)

- **PCR:** Tato metoda funguje nejlépe během prvních 5 až 7 dnů onemocnění a využívá vzorek krve nebo moči. Je rychlá a přesná v období, než si tělo vytvoří protilátky.
- **Hemokultura:** Může potvrdit infekci, avšak proces trvá dlouho a výsledky jsou málokdy k dispozici dostatečně brzy na to, aby pomohly při počáteční léčbě.)

## Testování v pozdější fázi (od 2. týdne)

- **MAT** (mikroskopický aglutinační test): Metoda představující „zlatý standard“, která měří hladinu protilátek v krvi smícháním vašeho séra s živými bakteriemi. Testují se dva vzorky odebrané s odstupem několika týdnů, aby bylo možné sledovat případný vzestup hladiny protilátek.
- **IgM ELISA:** Běžný screeningový test, který rychle zjišťuje přítomnost specifických protilátek bojujících proti infekci. Provádí se snadno, avšak pozitivní výsledky obvykle vyžadují potvrzení testem MAT, protože se mohou vyskytnout falešně pozitivní nálezy.

# Terapie

## Rychlé zahájení antibiotické terapie přizpůsobené závažnosti. **Lehká forma leptospirózy**

**Perorální antibiotika:** Standardní léčba zahrnuje podávání **doxycyklinu** (po dobu přibližně jednoho týdne).

**Alternativy:** Pokud není doxycyklin vhodný, používají se perorální přípravky jako **amoxicilin, ampicilin nebo azithromycin**.

**Specifické skupiny pacientů:** U dětí a těhotných žen přednost mají alternativy, jako je **amoxicilin nebo azithromycin**.

## **Závažná forma leptospirózy**

**Intravenózní (i.v.) léčba:** Závažné případy provázené orgánovou dysfunkcí nebo Weilovým syndromem vyžadují hospitalizaci a podávání **penicilinu G** či **ceftriaxonu** nitrožilně po dobu přibližně jednoho týdne. Mezi alternativy patří intravenózní podání **ampicilinu nebo meropenemu**.

**Podpůrná léčba:** úprava rovnováhy tekutin a elektrolytů, mechanická ventilace šetřící plíce nebo náhrada funkce ledvin (dialýza) při akutním poškození ledvin.

# Prevence a profylaxe

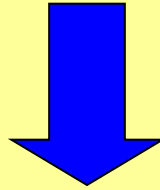
- **Chemoprofylaxe:** Perorální podávání [doxycyklinu] jednou týdně může zabránit infekci při krátkodobém vystavení vysokému riziku nákazy.
- **Obecná bezpečnostní opatření:** Vyhýbejte se kontaktu s potenciálně kontaminovanou vodou, půdou a zvířecí močí.



# **Mycobacteria**

**Proč acido-alkohol rezistentní?**

**Rezistentní k odbarvení kyselým  
alkoholem**

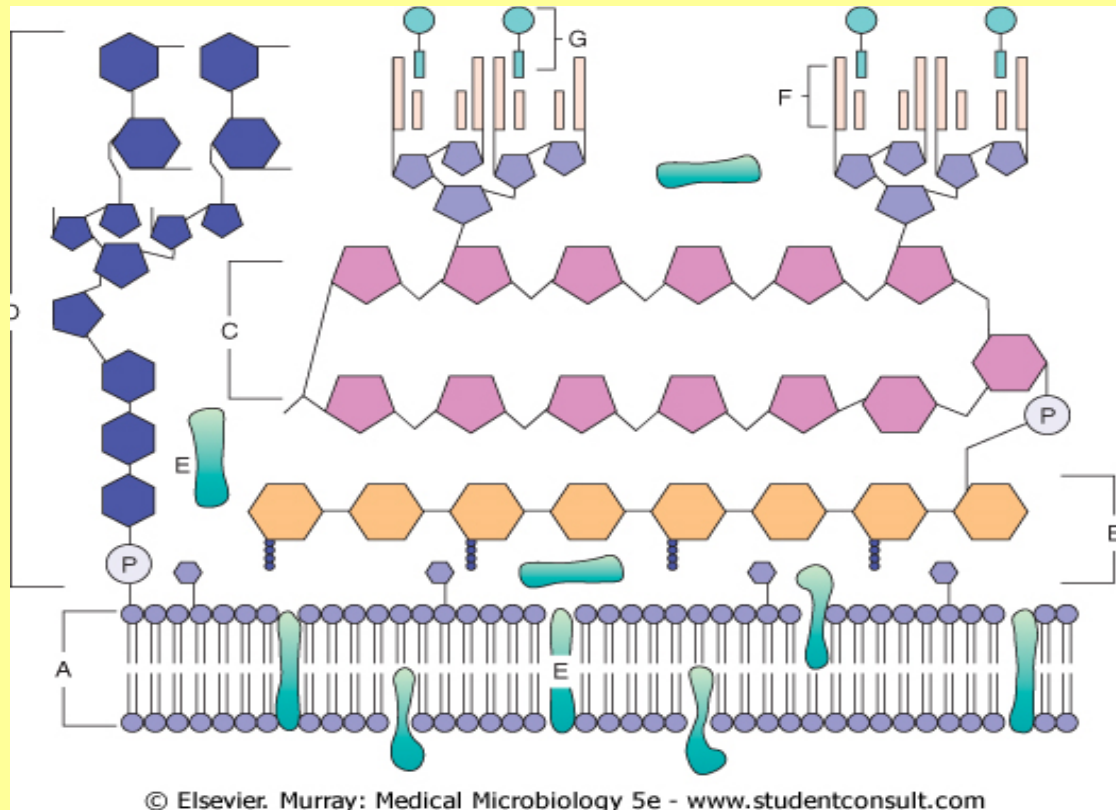


**Acido-rezistentní bakterie**

# Biologické vlastnosti

- **tyčinkovitý**
- netvořící spory
- aerobní
- **saprofytické nebo patogenní druhy**  
(způsobují chronická onemocnění –  
léze typu infekčního granulomu)

# Buněčná stěna bohatá na lipidy



Struktura buněčné stěny mykobakterií. Mezi jednotlivé složky patří (A) plazmatická membrána, (B) peptidoglykany, (C) arabinogalaktan, (D) lipoarabinomannan zakončený mannosou, (E) proteiny asociované s plazmatickou membránou a buněčnou stěnou, (F) **mykolové kyseliny** a (G) povrchové glykolipidové molekuly asociované s mykolovými kyselinami. (Redrawn from Karakousis et al: *Cell Microbiol* 6:105-116, 2004.)

# Jiné biologické vlastnosti

- acidorezistence
- **pomalý růst**
- odolnost vůči detergentům
- **odolnost vůči většině antibiotik**
- antigenita
- shlukování

# Proteiny buněčné stěny

- získané z *M. tuberculosis* (purifikované proteinové deriváty neboli PPD, tuberkulin)
- používané pro kožní testy k měření expozice vůči *M. tuberculosis*

# Clasifikace mykobakterií

## Patogenita

- **striktní** - *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae*
- **obvykle** - e.g. *M. avium* complex
- **někdy** - e.g. *M. xenopi*

# Růst mykobakterií

- pomalý růst – týdny či měsíce
- některé rychlý růst – dny
- kultivační média
  - agary (např. vaječné médium Löwenstein-Jensen)
  - bujóny (např. Šulův bujón)



Kultura *M. tuberculosis*  
vypěstovaná ze sputa pacienta  
na půdě podle Löwensteina-  
Jensena (doba kultivace 2  
měsíce) (<https://www.google.com/search>)

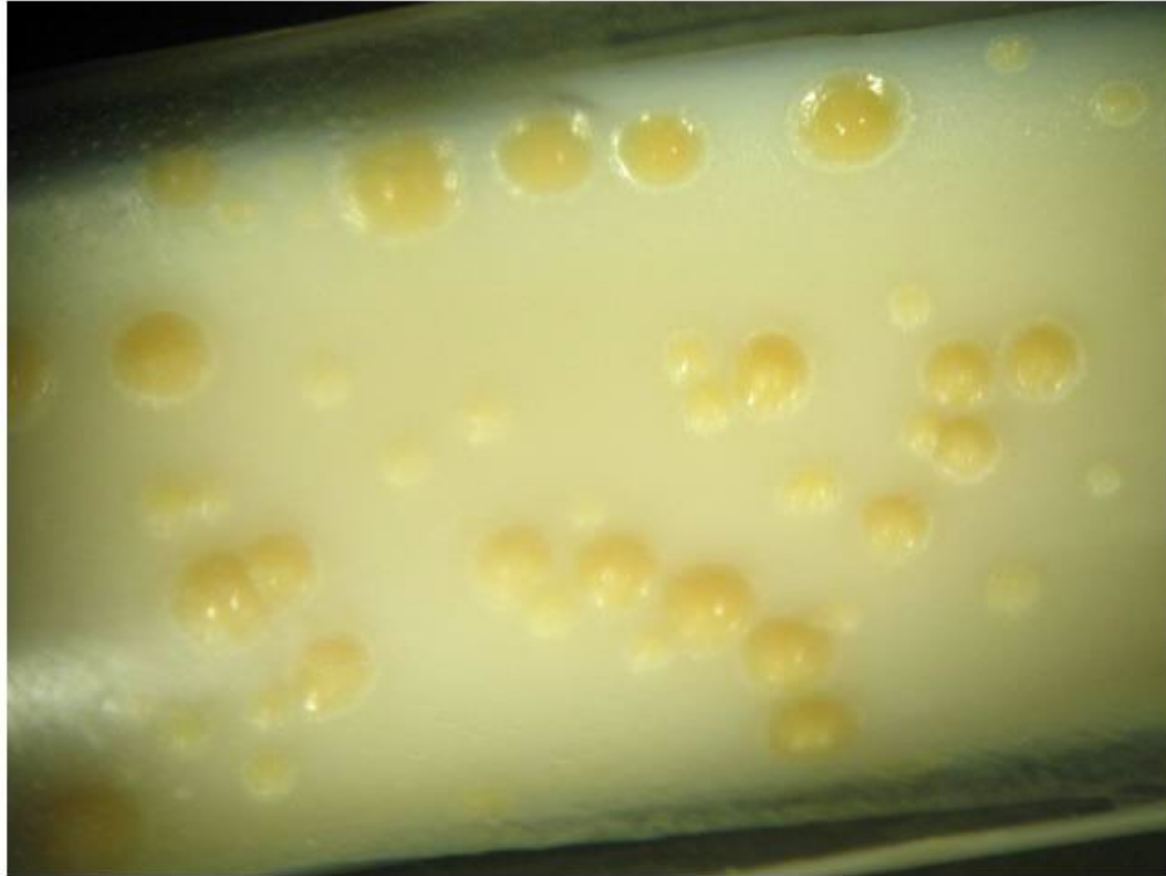
# *M. avium*



*M. avium*  
(Löwenstein-Jensen medium)

© Dept. Med. Microbiol., 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine  
Charles University, Prague

# ***M. kansasii***



***M. kansasii* (photochromogenic)  
(Löwenstein-Jensen medium)**

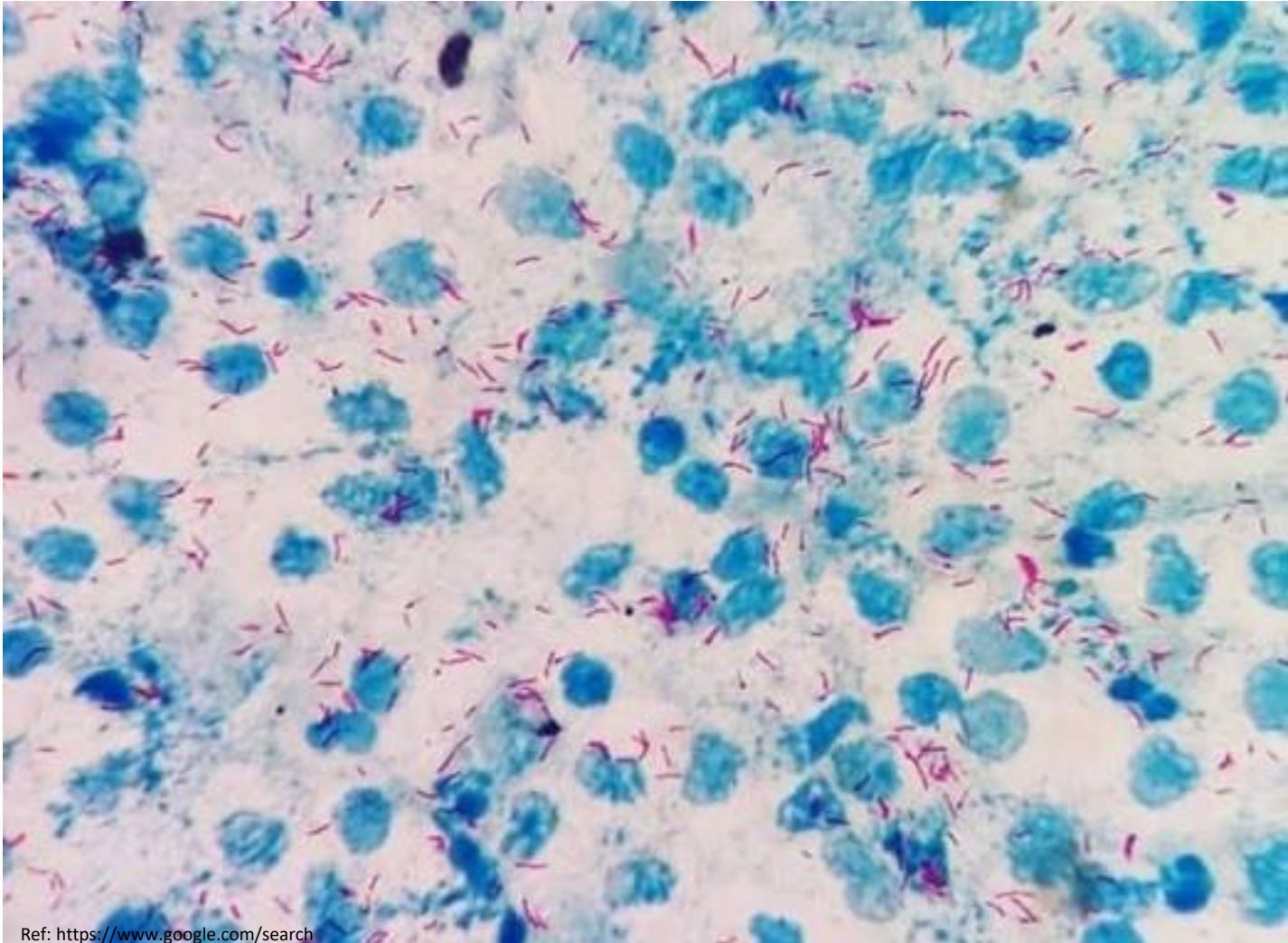
# Barvení Ziehl-Neelsena

- metoda známá také jako **barvení na acidorezistentní bakterie** Neelsen (1854–1894)

## Postup

- 1. Překrýt preparát karbolfuchsinem a barvit 2 minuty za současného zahřívání parou
- 2. Odbarvit preparát směsí kyseliny chlorovodíkové a ethanolu
- 3. Dobarvit methylenovou modří (nebo malachitovou zelení)

# Sputum, barvení Ziehl-Neelsen, plicní infekce způsobená *M. tuberculosis*



Ref: <https://www.google.com/search>

# ***M. tuberculosis* - patogeneze**

- může způsobit celoživotní infekci
- jak? (onemocnění vzniká především v důsledku reakce hostitele na infekci)
- vstup do dýchacích cest a fagocytóza alveolárními makrofágy (blokování fúze s fagolysozomem)
- pomnožení v makrofázích
- makrofágy a lymfocyty jsou přitahovány do místa infekce (vznik vícejaderných obrovských buněk – Langhansových buněk)
- infikované makrofágy putují do
- regionálních lymfatických uzlin
- krevního řečiště a tkání
- 5. vznik granulomů (shluky aktivovaných makrofágů)
- brání šíření původce do organismu hostitele (opouzdření fibrinem)
- chrání mykobakterie před zničením makrofágy
- 6. v tomto stadiu může přetrvávat v latentní formě po celá desetiletí

## ***M. tuberculosis* – symptomy infekce**

Klinické projevy tuberkulózy závisí na místě infekce, přičemž primární onemocnění je obvykle omezeno na dolní cesty dýchací. Onemocnění má plíživý začátek. Pacienti si typicky stěžují na nespecifické příznaky, jako jsou celková malátnost, úbytek hmotnosti, kašel a noční pocení. Expektorát může být skoupý, případně krvavý či hnisavý. Vykašlávání sputa s příměsí krve (hemoptýza) souvisí s destrukcí tkáně (např. při tvorbě kavit). Klinickou diagnózu podporují: (1) radiografický nález plicního onemocnění, (2) pozitivní reakce na kožní test a (3) laboratorní průkaz mykobakterií, ať už mikroskopicky, nebo kultivačně. U pacientů s aktivním onemocněním, které zahrnuje pneumonitidu, tvorbu abscesů či kavitaci, bývají obvykle postiženy jeden nebo oba horní plicní laloky.

# Microbiologická diagnostika

**Klinické projevy tuberkulózy závisí na místě infekce,** přičemž primární onemocnění je obvykle omezeno na dolní dýchací. **Onemocnění má plíživý začátek.** Pacienti si většinou stěžují na **nespecifické příznaky**, jako jsou celková malátnost, úbytek hmotnosti, **kašel** a noční pocení. **Expektorát** může být skoupý, případně **krvavý** či hnisavý. Vykašlávání sputa s příměsí krve (**hemoptýza**) souvisí s destrukcí tkání (např. při tvorbě kavit).

**Diagnostika:** (1) radiografický nález plicního onemocnění, (2) pozitivní reakce na kožní test a (3) laboratorní průkaz mykobakterií, ať už **mikroskopicky, nebo kultivačně nebo DNA technikou.** U pacientů s aktivním onemocněním, které zahrnuje pneumonitidu, tvorbu abscesů či kavitaci, bývají obvykle postiženy jeden nebo oba horní plicní laloky.

# ***M. tuberculosis* - epidemiologie**

- **Celosvětově je tímto organismem infikována třetina světové populace (často jenom primární komplex).**
- **Ročně je zaznamenáno celkem 8,8 milionu nových případů a 2 miliony úmrtí (pro srovnání: u malárie jde o 282 milionů případů a 610 000 úmrtí ročně).**
- **Nejčastěji se vyskytuje v jihovýchodní Asii, subsaharské Africe a východní Evropě.**
- **Mezi skupiny s nejvyšším rizikem onemocnění patří imunokompromitovaní pacienti (zejména osoby s infekcí HIV), uživatelé drog či alkoholu, lidé bez domova a osoby vystavené kontaktu s nemocnými.**
- **Přirozeným rezervoárem jsou lidé (a také primáti).**
- **Přenos z člověka na člověka probíhá prostřednictvím infekčních aerosolů.**

# ***M. tuberculosis* – léčba, prevence a kontrola**

- \* **k prevenci vzniku kmenů rezistentních** na léčiva je nutné používat režimy s více léčivy a dlouhodobou léčbu
- \* **podávání izoniazidu (INH), ethambutolu, pyrazinamidu a rifampicinu** po dobu 2 měsíců, následované 4 až 6 měsíci léčby INH a rifampicinem nebo alternativní kombinací léčiv
- \* **profylaxe** po expozici tuberkulóze může zahrnovat podávání INH po dobu 9 měsíců, rifampicinu po dobu 4 měsíců nebo kombinace rifampicinu a pyrazinamidu po dobu 2 měsíců; po expozici kmenům *\*M. tuberculosis\** rezistentním na léčiva se po dobu 6 až 12 měsíců používají pyrazinamid a ethambutol nebo levofloxacin
- \* **imunoprofylaxe vakcínou BCG** (Bacille Calmette-Guérin) – jedná se o živou vakcínu, která se v endemických zemích používá především k ochraně kojenců a malých dětí před závažnými, život ohrožujícími formami tuberkulózy
- \* **kontrola onemocnění** prostřednictvím aktivního sledování, profylaktických a terapeutických opatření a pečlivého monitorování jednotlivých případů
- \* **problematika MDR-TB** (kmeny rezistentní na více léčiv) a **XDR-TB** (extenzivně rezistentní tuberkulóza) – vysoce rezistentní forma tuberkulózy způsobená bakterií *\*Mycobacterium tuberculosis\**, která nereaguje na léčiva první ani druhé linie určená k léčbě infekce *\*M. tuberculosis\**

## ***M. tuberculosis* – léčba, prevence a kontrola**

- **MDR-TB (kmeny rezistentní vůči více léčivům).**  
Tuberkulóza rezistentní vůči více léčivům (MDR-TB) se léčí pomocí specializovaných kombinací léčiv podávaných výhradně ústy, přičemž léčba trvá 6 až 20 měsíců v závislosti na konkrétním režimu a profilu lékové rezistence.
- **XDR-TB (tuberkulóza s extenzivní lékovou rezistencí)** se léčí pomocí individuálně nastavených kombinovaných režimů specializovaných léků druhé linie podávaných výhradně ústy, které jsou voleny na základě výsledků testování citlivosti na léčiva.

# ***M. tuberculosis* – léčba, prevence a kontrola**

## **Moderní léčebné režimy**

- **Šestiměsíční režimy** podávané výhradně perorálně: Moderní lékařské směrnice upřednostňují krátké režimy podávané pouze ústy, jako jsou BPaLM (bedakvilin, pretomanid, linezolid a moxifloxacin) či BPaL (bez moxifloxacinu v případech s prokázanou rezistencí na fluorochinolony). Tyto režimy do značné míry nahradily starší, bolestivé postupy zahrnující každodenní injekce.
- **Devítiměsíční režimy** podávané výhradně perorálně: Doporučují se pro vybrané pacienty, u nichž byla vyloučena rezistence na fluorochinolony; využívají kombinaci bedakvilinu, fluorochinolonů a dalších doprovodných léčiv.
- **Delší individualizované režimy:** Trvají 18 až 20 měsíců a jsou určeny pro složité případy, pacienty s rozsáhlou lékovou rezistencí nebo pro ty, kteří nejsou vhodnými kandidáty na kratší léčebné cykly. Vycházejí z hierarchie účinných léků druhé linie (přípravky skupin A, B a C).

## ***M. avium* komplex a infekce**

- zahrnuje dva druhy mykobakterií: ***M. avium*** a ***M. intracellulare***
- **všudypřítomné**, vyskytují se ve vodě (sladké, brakické, mořské i pitné), na rostlinách a v půdě
- postihují **imunokompetentní i imunodeficientní pacienty**
- **často** způsobují **plicní onemocnění**

## ***M. avium* komplex a infekce**

### **Plicní infekce (postižení plic)**

Jedná se o nejčastější formu, která často postihuje starší osoby nebo lidi s již existujícím plicním onemocněním.

Chronický kašel s vykašláváním hlenu (sputa)

Dušnost (dyspnoe)

Únava a nedostatek energie

Horečka a noční pocení

Úbytek hmotnosti a ztráta chuti k jídlu

Vykašlávání krve (hemoptýza – méně časté; častěji přítomny uzlíky, může jít o miliární infekci)

### **Diseminovaná infekce (často miliární forma)**

Vyskytuje se především u osob s výrazně oslabeným imunitním systémem, například v pokročilém stadiu HIV/AIDS.

Vysoké nebo přetrvávající horečky

Silná únava

Bolest břicha

Průjem

Anémie (nízký počet červených krvinek)

Zvětšení jater nebo sleziny

### **Lymfadenitida (postižení lymfatických uzlin)**

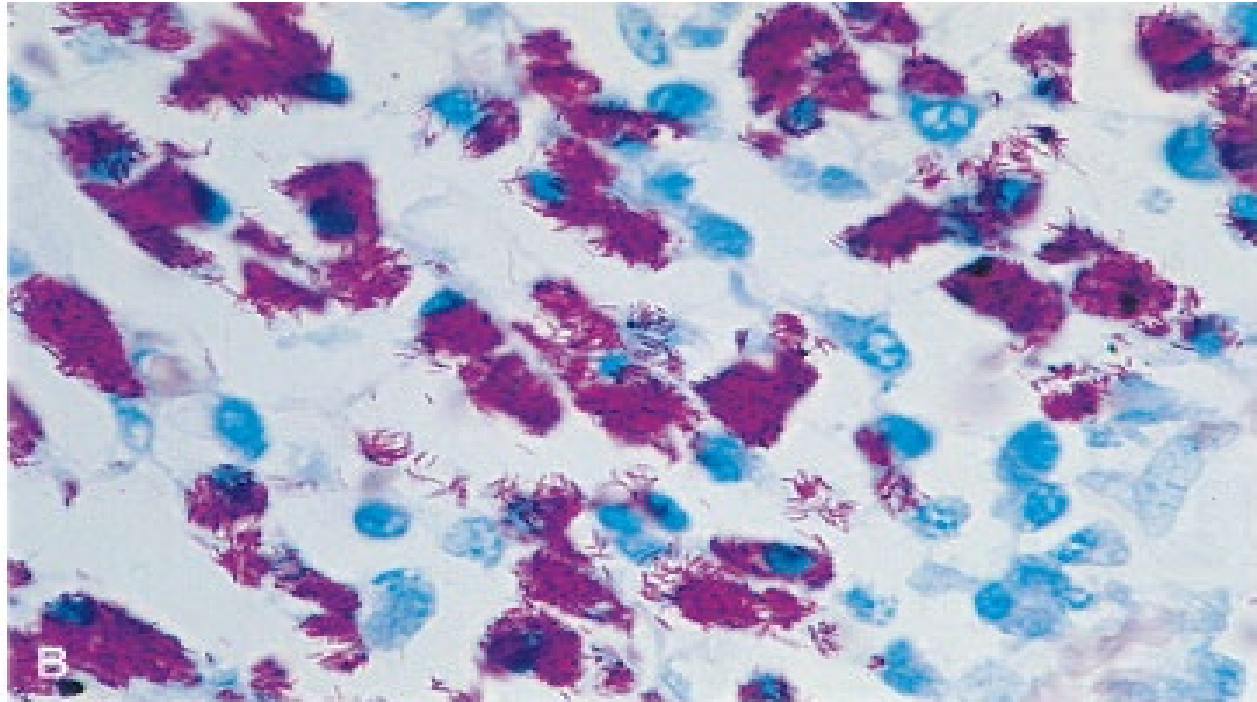
Tento typ postihuje především malé děti.

Zvětšené lymfatické uzliny, obvykle v oblasti krku (cervikální lymfadenitida)

## ***M. avium* komplex – léčba, prevence a kontrola**

- Léčba infekcí zahrnující **dlouhodobé** podávání **klarithromycinu** nebo **azithromycinu** v kombinaci s **ethambutolem** a **rifabutinem**
- **Profylaxe u pacientů s AIDS** s nízkým počtem buněk CD4+ spočívá v podávání klarithromycinu, azithromycinu nebo rifabutinu
- Antibiotická profylaxe výrazně snížila výskyt onemocnění u pacientů s AIDS

# ***M. avium* komplex - mikroskopie**



© Elsevier. Murray: Medical Microbiology 5e - [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)

Tkáň pacienta s AIDS infikovaného komplexem *Mycobacterium avium*, vyfotografovaná při malém (A) a velkém (B) zvětšení.

## Jiné pomalurostoucí mykobakteria

\* Vykazují **relativně nízký potenciál virulence**. Některá mykobakteria vyvolávají onemocnění **nerozeznatelné od plicní tuberkulózy** (např. *Mycobacterium bovis*, *M. kansasii*), jiné druhy běžně způsobují infekce lokalizované v lymfatické tkáni (*Mycobacterium scrofulaceum*) a další, které optimálně rostou při nižších teplotách, vyvolávají především **kožní infekce** (*Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium marinum* – kontakt s vodou).

**S výjimkou *M. bovis*** (které je blízce příbuzné s *M. tuberculosis*) **k přenosu těchto mykobakterií z člověka na člověka nedochází.**

# Rychle rostoucí mykobakteria

- **růst za méně než 7 dní**
- **relativně nízký potenciál virulence**
- **nejčastějšími druhy spojenými s onemocněním jsou *M. fortuitum*, *M. chelonae* a *M. abscessus***
- **spojeny s onemocněním vznikajícím po zanesení bakterií do hlubokých podkožních tkání v důsledku traumatu nebo iatrogenní infekce (vzácně diseminovaná infekce)**

# *M. leprae*

- Projevy lepry závisí na imunitní reakci pacienta na bakterie.

## **Onemocnění**

- **Tuberkuloidní forma lepry**
- **Lepromatózní forma lepry**

## **Diagnostika**

- **PCR** detekuje specifickou DNA a potvrzuje tak lepru, zejména pokud jsou výsledky tradičních metod neprůkazné.
- **Mikroskopické** vyšetření je citlivé u lepromatózní formy, nikoli však u formy tuberkuloidní.
- K potvrzení tuberkuloidní lepry je nutné provést kožní test.
- Kultivace není přínosná.

# Tuberculoidní (a) a lepromatózní lepra (b)



(a)



(b)

[https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&hs=Clkq&sca\\_esv=63d299c068466862&sxsrf=APpeQnsWSSsSE4bCyJz7Uk8Febs7FwBhuw:1791025630544&udm=2&fbs=ABftbFVoiOAe5bfNeqyKguXm6dMy\\_0ApBOceFCSj56j3b6FgHhiePJsdPzG-T28G\\_MN3pluFnO\\_Fa78g23E86wN4XP61a7njJn91Zz4vrgM8j9OsMjq9YjIN3vljDH-hbQoEOmra2-D4yogAa9Geo\\_CGGSt7MvhkDnDAGEK9LfyU2NXbOBOrYdk8SWf-QRdrmlUL2ud\\_R-lfb&q=lepromatous+leprosy&sa=X&ved=2ahUKEwiO0fez2p2XAxVTo08IHYLiH-cQtKgLegQIGxAB&biw=1371&bih=621&dpr=1.36#sv=CAMSUxoyKhBILWFMVlhmd1IDMDJecTZNMg5hZIZYndZQzAyRHE2TToOR2dtbjZUcGpEWE9MOE0gBCoXCgFzEhBILWFMVlhmd1IDMDJecTZNGAEwAVABGAcgy\\_6qhAZKCACGAEGaigB](https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&hs=Clkq&sca_esv=63d299c068466862&sxsrf=APpeQnsWSSsSE4bCyJz7Uk8Febs7FwBhuw:1791025630544&udm=2&fbs=ABftbFVoiOAe5bfNeqyKguXm6dMy_0ApBOceFCSj56j3b6FgHhiePJsdPzG-T28G_MN3pluFnO_Fa78g23E86wN4XP61a7njJn91Zz4vrgM8j9OsMjq9YjIN3vljDH-hbQoEOmra2-D4yogAa9Geo_CGGSt7MvhkDnDAGEK9LfyU2NXbOBOrYdk8SWf-QRdrmlUL2ud_R-lfb&q=lepromatous+leprosy&sa=X&ved=2ahUKEwiO0fez2p2XAxVTo08IHYLiH-cQtKgLegQIGxAB&biw=1371&bih=621&dpr=1.36#sv=CAMSUxoyKhBILWFMVlhmd1IDMDJecTZNMg5hZIZYndZQzAyRHE2TToOR2dtbjZUcGpEWE9MOE0gBCoXCgFzEhBILWFMVlhmd1IDMDJecTZNGAEwAVABGAcgy_6qhAZKCACGAEGaigB)

# Léčba lepry

- **Kombinovaná antibiotická terapie:** Světová zdravotnická organizace (WHO) doporučuje užívat současně několik léků, nejčastěji kombinaci **rifampicinu, dapsonu a klofaziminu**.
- **Délka léčby:** Terapie je dlouhodobá a obvykle trvá **6 až 12 měsíců**, u těžších forem i déle.
- **Ztráta infekčnosti:** Již po zahájení léčby těmito léky není pacient pro své okolí nadále nakažlivý.
- **Doplňková péče:** Lékaři tlumí záněty a případné komplikace léky, v pozdních stadiích pomáhá i plastická chirurgie nebo psychologická podpora.

# Epidemiologie, prevence a kontrola

- Lepra se šíří přenosem z člověka na člověka. Přesto hlavní cesta nákazy není známa, předpokládá se, že se *M. leprae* šíří buď vdechováním infekčních aerosolů, nebo kožním kontaktem s respiračními sekrety a výpotky z ran. Ve výměšcích z nosu pacientů s lepromatózní formou lepry se nachází velké množství bakterií *M. lepry*.