



MIKROBIOLOGIA

Skrypt dla studentów medycyny

Michu[®]
Wrocław 2008
Wersja 1.2

SPIS ZAGADNIENÍ

Mikrobiologia ogólna

1. Podstawy klasyfikacji bakterii
- Struktura komórki bakteryjnej:
2. Ściana komórkowa
 3. Otoczki
 4. Rzęski
 5. Fimbrie
 6. Adhezja
 7. Przetrwalniki
 8. Wtręty cytoplazmatyczne
- Genetyka bakterii:
9. Genom bakterii
 10. Zmienność mutacyjna
 11. Koniugacja
 12. Transformacja
 13. Transdukcja
- Metabolizm i fizjologia bakterii:
14. Asymilacja pierwiastków biogennych (autotrofizm i heterotrofizm)
 15. Oddychanie (tlenowe i beztlenowe)
 16. Podłoża bakteriologiczne
 17. Metody hodowli bakterii beztlenowych
 18. Mechanizmy chorobotwórczości bakterii: otoczki, adhezja, inwazja, egzoenzymy, toksyczność
 19. Sposoby „ucieczki” bakterii przed mechanizmami obronnymi organizmu zakażonego
- Antybiotyki (charakterystyka, zakres i mechanizmy działania):
20. β-laktamy (penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy, karbapenemy)
 21. Aminoglikozydy
 22. Tetracykliny
 23. Makrolidy
 24. Glikopeptydy
 25. Chinolony i fluorochinolony
 26. Sulfonamidy
 27. Polipeptydy
 28. Nitroimidazole
- Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki:
29. Genetyczne podstawy oporności
 30. Fenotypowa ekspresja oporności
 31. Pojęcia związane z opornością na antybiotyki: MRSA, VRE, VISA, HLAR, ESBL
 32. Metody oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki
- Sterylizacja i dezynfekcja
33. Pojęcia: aseptyka, antyseptyka, dezynfekcja, sterylizacja
 34. Metody sterylizacji i dezynfekcji
 35. Kontrola procesów sterylizacji
 36. Kontrola jałowości leków

Mikrobiologia szczegółowa

- G(+) ziarniaki – gronkowce:
37. *Staphylococcus aureus*
 38. *S. epidermidis* i *S. saprophyticus*
- G(+) ziarniaki – paciorkowce:
39. *Streptococcus pyogenes*
 40. *S. pneumoniae*
 41. *S. orale*
 42. *S. agalactiae*
 43. paciorkowce kałowe
- G(+) bakterie cylindryczne:
44. *Corynebacterium diphtheriae*
 45. *C. jeikeium*, *C. urealyticum*
 46. *Actinomyces*

Prątki:

47. Mycobacterium tuberculosis
48. M. leprae
49. Prątki atypowe

G(+) laseczki tlenowe i beztlenowe:

50. Bacillus anthracis
51. Clostridium tetani
52. C. botulinum
53. C. perfringens
54. C. difficile

G(-) ziarniaki

55. Neisseria meningitidis
56. N. gonorrhoeae

G(-) pałeczki:

- jelitowe – Enterobacteriaceae
 57. Escherichia
 58. Shigella
 59. Salmonella
 60. Klebsiella
 61. Proteus
- niefermentujące
 62. Pseudomonas
 63. Acinetobacter
- zakrzywione
 64. Helicobacter
 65. Campylobacter
- inne
 66. Legionella

Bakterie spiralne:

67. Treponema
68. Borrelia
69. Leptospira

70. Mycoplasma
71. Ureaplasma
72. Chlamydia

Pierwotniaki:

73. Toxoplasma gondii
74. Trichomonas vaginalis
75. Lamblia intestinalis
76. Pneumocystis carinii

Grzyby (mikologia):

77. Candida
78. Geotrichum
79. Cryptococcus
80. Aspergillus
81. Dermatofity: Trychophyton i Epidrmophyton
82. Klasyfikacja zakażeń grzybiczych

83. Zespół TORCH

Wirusologia

84. Budowa i replikacja wirusów
85. Wirusy zapalenia wątroby A-C (HAV, HBV, HCV)
86. Retrowirusy – HIV; AIDS
87. Wirus grypy (FLUAV, FLUBV, FLUCV)
88. Wirus wścieklizny (RABV)
89. Wirus świnki (MuV)
90. Wirus odry (MEV)
91. Wirus różyczki (RUBV)

92. Wirusy wywołujące zapalenie żołądka i jelit: rotawirusy, adenowirusy, „małe okrągłe wirusy” (SRV), kalici-, korona- i astrowirusy
93. Wirus opryszczki pospolitej (HSV)
94. Wirus ospy wietrznej-półpaśca (VZV)
95. Wirus Epstein – Barr (EBV)
96. Wirus cytomegalii (CMV)
97. Wirus brodawczaka (HPV)
98. Wirus ospy prawdziwej (VARV)
99. Wirus Ebola
100. Wirus Hanta
101. Wirus gorączki Lassa
102. Enterowirusy (poliowirusy)
103. Wirusy powolne (lentowirusy)
104. Priony i choroby prionowe

Diagnostyka

105. Flora naturalna organizmu ludzkiego
 106. Zakażenia oportunistyczne
 107. Zakażenia szpitalne: czynniki etiologiczne i czynniki ryzyka; epidemiologia zakażeń szpitalnych; podstawy zapobiegania i kontroli
 108. Odporność przeciwważna przeciwbakteryjna i przeciwwirusowa
 109. Szczepionki i szczepienia ochronne w Polsce
 110. Metody diagnostyki w zakażeniach wirusologicznych; pobieranie i przesyłanie materiału do badań wirusologicznych
 111. Pobieranie i przesyłanie materiałów do badań mikrobiologicznych: krew, OUN, układ pokarmowy, drogi oddechowe, układ moczowo – płciowy, oko, ucho, materiały śródoperacyjne
- Zakażenia układowe (czynniki etiologiczne i diagnostyka):
112. Układ moczowy
 113. Przewód pokarmowy
 114. Choroby weneryczne
 115. Diagnostyka kiły
 116. Skóra i tkanki miękkie
 117. Krew
 118. OUN
 119. Górne drogi oddechowe
 120. Dolne drogi oddechowe
 121. Diagnostyka gruźlicy

MIKROBIOLOGIA OGÓLNA

1. Podstawy klasyfikacji bakterii

Bakterie często grupuje się w celach opisowych na podstawie czterech głównych cech:

- barwienia metodą Grama
Barwienie metodą Grama wykorzystuje zdolność niektórych barwników, jak fiolet krystaliczny, do wiązania się z kwasami teichowymi ściany komórkowej bakterii G(+) i do nieulegania wypłukaniu pod wpływem alkoholu lub acetonu. Dlatego G(+) barwią się na niebiesko, a G(-) na różowo. Ta prosta reakcja uwidacznia znaczne różnice w budowie ściany bakterii. Różnica w strukturze ściany komórkowej odpowiada także za różne właściwości patogenne i oporność na antybiotyki tych dwóch głównych grup bakterii.
- kształtu
Ściana komórkowa stanowi podstawę określonego kształtu bakterii, charakterystycznego dla pewnych rodzajów bakterii.
 - ziarenkowce (paciorkowce, gronkowce) – kształt kulisty,
 - pałeczki bardziej lub mniej wydłużone
 - wrzecionowce (*Fusobacterium*)
 - przecinkowce (*Vibrio*)
 - krętki
 - bakterie spiralne
- zapotrzebowania na tlen
Bakterie można podzielić ze względu na wymagania dotyczące atmosfery, w której następuje ich wzrost.
 - bezwzględnie tlenowe – muszą używać tlenu jako końcowego akceptora elektronów (*Bordetella pertussis*),
 - mikroaerofilne – także używają tlenu jako końcowego akceptora elektronów, ale wzrastają przy jego zmniejszonym ciśnieniu (*Campylobacter*),
 - względnie beztlenowe – rosną w tlenowej bądź beztlenowej atmosferze (wiele bakterii patogennych dla człowieka – gronkowce, paciorkowce, pałki jelitowe)
 - bezwzględnie beztlenowce – tylko w warunkach beztlenowych (*Clostridium*)
 - aerotolerancyjne – mogą przeżyć, ale nie rosnąć, przez krótki czas w obecności tlenu atmosferycznego.
- obecności spor
Dwa rodzaje bakterii chorobotwórczych dla człowieka tworzą (endo)spory bakteryjne – *Clostridium* i *Bacillus*. Kształt, wielkość i umiejscowienie spor w komórce mogą być pomocny w identyfikacji bakterii, szczególnie w obrębie rodzaju *Clostridium*.

STRUKTURY KOMÓRKI BAKTERYJNEJ I ICH FUNKCJE

- osłony komórkowe:
 - otoczki – egzopolisacharyd,
 - ściana komórkowa,
 - błona cytoplazmatyczna,
- rzęski,
- fimbrie (pili),
- przetrwalniki,
- wtręty (inkluzyje) cytoplazmatyczne,
- materiał genetyczny (nukleoid, plazmidy),
- cytoplazma, mezosomy, rybosomy

2. Ściana komórkowa

Peptydoglikan (mureina, mukopeptyd) — występuje u wszystkich bakterii z wyjątkiem rodzajów *Mycoplasma*, *Halobacterium* oraz form L bakterii. Cząsteczka peptydoglikanu to heteropolimer o złożonej budowie:

- Szkielet mureiny – naprzemiennie ułożone reszty N-acetyloglukozoaminy i kwasu N-acetylmuraminowego, połączonych wiązaniami β -1,4 (wiązanie wrażliwe na działanie lizozymu).
- Łańcuch tetrapeptydowy – dołączony do kwasu N-acetylmuraminowego (L-alanina, kwas D-glutaminowy, kwas diaminopimelinowy – DAP lub L-lizyna i D-alanina).
- Poprzeczne mostki peptydowe – łączą (sieciują) tetrapeptydy sąsiednich łańcuchów peptydoglikanu (np. pentaglicyna u *Staphylococcus aureus*).

Ściana komórkowa bakterii Gram(+):

- Peptydoglikan – stanowi 50-90% składników ściany komórkowej (40 warstw),
- Kwasy teichojoyowe zawierające reszty rybitolu lub glicerolu połączone wiązaniami fosfodiesterowymi:
 - rybitolowy kwas teichojoyowy (kwas teichojoyowy ściany), zbudowany z fosforanu polirybitolu, związany kowalencyjnie z peptydoglikanem,
 - glicerolowy kwas teichojoyowy (lipoteichojoyowy) – zbudowany z fosforanu glicerolu, związany z glikolipidami błony,
- Kwasy teichuronowe, zbudowane z reszt kwasów cukrowych (np. kwasu D-glukuronowego),
- Polisacharydy (mannoza, ramnoza, glukoza, arabinoza itp.),
- Białka (np. białko M u *Streptococcus pyogenes* – czynnik wirulencyjny; białko A u *Staphylococcus aureus*).

Ściana komórkowa bakterii Gram(-):

- Peptydoglikan – 5-20% składników ściany komórkowej; zwykle pojedyncza warstewka mureiny zlokalizowana w przestrzeni periplazmatycznej.
- Błona zewnętrzna ściany komórkowej – podwójna warstwa fosfolipidów, w której zewnętrzna warstewka została zastąpiona lipopolisacharydem. W skład błony zewnętrznej wchodzi:
 - lipopolisacharyd (LPS) – zbudowany z 3 części: lipidu A (warunkuje aktywność endotoksyny), oligosacharydu rdzeniowego (antygen wspólny — CA = common antigen) oraz O-swoistego łańcucha bocznego (antygen somatyczny O),
 - białka
 - ➔ białka porynowe (np. OmpC) – umożliwiają swobodną dyfuzję cząsteczek przez błonę,
 - ➔ białka receptorowe dla bakteriofagów (np. Lam B),
 - ➔ białka nieporynowe (np. OmpA, receptor fimbrii płciowych),
 - ➔ białka enzymatyczne: proteazy, fosfolipazy, białka wiążące penicyliny – PBP
- Przestrzeń periplazmatyczna – między błoną wewnętrzną (cytoplazmatyczną) a błoną zewnętrzną; zawiera liczne białka enzymatyczne (transportowe, degradujące (hydrolazy), syntetyzujące).
- Lipoproteina (LP) — tworzy mostki między peptydoglikanem a błoną zewnętrzną.

Działanie fizjopatologiczne endotoksyn G(-) bakterii jelitowych:

1. indukcja IL-1 (pirogeny endogennego) – gorączka,
2. leukopenia,
3. hipotensja,
4. upośledzenie perfuzji (ukrwienia narządów) i kwasica metaboliczna,
5. aktywacja dopełniacza na drodze alternatywnej poprzez uczynnienie C3,
6. rozsiane krzepnięcie wewnątrznaczyniowe (DIC) – endotoksyna aktywuje czynnik XII uruchamiając kaskadę krzepnięcia,
7. wstrząs endotoksyczny – wynik niewydolności wielonarządowej (MOFS).

3. Otoczki (glikokaliks, śluz polisacharydowy)

Otoczki – bakteryjne egzopolimery (polimery zewnątrzkomórkowe) o grubości 0,2-1,0 um, ściśle związane ze strukturami powierzchniowymi komórki bakteryjnej. Synteza otoczek jest kontrolowana genetycznie, ale może być też zależna od warunków środowiska (np. obecność CO₂ indukuje syntezę otoczki u *Bacillus anthracis*). Szczepy otoczkowe wytwarzają na podłożu stałym kolonie gładkie (typu S), zaś bezotoczkowe kolonie szorstkie (typu R). Otoczki trudno barwią się konwencjonalnymi metodami barwienia. Ich obecność można wykryć stosując:

- barwienie negatywne (tusz chiński, nigrozyna),
- barwienie negatywno – pozytywne (metoda Burin – Ginsa),
- test puchnięcia otoczek (swoiste przeciwciąła).

Budowa chemiczna otoczek:

- otoczki polisacharydowe – większość bakterii otoczkowych (np. *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria*, *Haemophilus*) – zbudowane z cukrów obojętnych (heksozy, pentozy), aminocukrów lub kwasów uronowych:
 - homopolimery cukrowe (np. otoczka szczepu *E. coli* K1 zbudowana z kwasu N-acetyleneuraminowego),
 - heteropolimery cukrowe (otoczki *Streptococcus pneumoniae*),
- otoczki peptydowe (niektóre bakterie Gram(+)):
 - *Bacillus anthracis* (otoczka zbudowana z kwasu D-glutaminowego),
 - *Bacillus subtilis* (otoczka zbudowana z mieszaniny izomerów D i L kwasu glutaminowego)

Właściwości immunogenne otoczek:

Otoczki bakteryjne indukują odporność humoralną w zakażonym organizmie (produkcja przeciwciał). Ze względu na właściwości serologiczne otoczki wielu gatunków bakterii (np. Enterobacteriaceae) noszą nazwę antygeny K (niem. Kapselantigene).

Różnice w budowie chemicznej otoczek są podstawą wyodrębnienia typów otoczkowych w obrębie określonego gatunku bakterii. Przykłady:

- Streptococcus pneumoniae – 85 typów otoczkowych,
- Escherichia coli – ponad 100 typów otoczkowych.

Praktyczne zastosowanie otoczek bakteryjnych w profilaktyce chorób zakaźnych. Przykład: szczepionka.

Pneumovax (23 typy serologiczne otoczek Streptococcus pneumoniae), indukuje wysokie miana przeciwciał skierowanych przeciw wielocukrom otoczkowym, utrzymujące się przez 2-3 lata.

Oprócz antygeny K niektóre bakterie tworzą na powierzchni komórek duże ilości śluzu, zbudowanego z polisacharydu, luźno związanego z komórką:

- antygen M – E. coli,
- antygen Vi – S. typhi,
- glikokaliks - Staphylococcus spp.,
- śluz polisacharydowy (P. aeruginosa).

Biologiczne właściwości otoczek:

- ochrona komórek bakteryjnych przed niekorzystnymi czynnikami środowiska (wyschnięciem),
- wpływ na dyfuzję różnych molekuł zarówno z jak i do komórki (utrudniona penetracja niektórych antybiotyków do komórek okrytych otoczką),
- udział w wiązaniu niektórych kationów (Mg^{2+}),
- udział w patogenezie; bakterie chorobotwórcze, izolowane z materiałów klinicznych prawie zawsze wykazują obecność otoczek, pasażowanie szczepów bakteryjnych in vitro z reguły prowadzi do ich utraty.

Związek między otoczką a chorobotwórczością:

- Streptococcus pneumoniae – szczepy S chorobotwórcze, szczepy R niechorobotwórcze (Griffith, 1928),
- E. coli K5, K1,
- Haemophilus influenzae b,
- Neisseria meningitidis a, b, c itp.,

Rola bakteryjnych egzopolimerów (otoczek / glikokaliksu) w procesie chorobotwórczym:

- ochrona przed fagocytozą,
- ochrona przed przyłączeniem opsonin (przeciwciał, składników dopełniacza), prowadząca do zablokowania opsonofagocytozy,
- adhezja do nabłonka (kolonizacja) i powierzchni stałych (protezy ortopedyczne, zastawki naczyniowe, cewniki):
 - Bacteroides fragilis – adhezja do komórek nabłonka za pośrednictwem otoczek,
 - Streptococcus mutans, Staphylococcus epidermidis – adhezja za pośrednictwem glikokaliksu.

4. Rzęski

Nitkowate, cylindryczne twory - aparat ruchu wielu gatunków bakterii Gram(+) i Gram(-). Rzęski zbudowane są z 3 części: włókna, haczyka i ciała podstawowego (bazalnego).

- Włókno - zbudowane z monomerów białka (flagelliny) cechującego się immunogennością (antygen H). Stosując metody serologiczne można wyróżnić liczne typy antygenów H w obrębie jednego gatunku (Salmonella typhimurium – 60, Escherichia coli – 53, Yersinia enterocolitica – 19).
- Haczyk – zbudowany z jednego rodzaju białka (immunogenność), łączy włókno z ciałkiem podstawowym.
- Ciało podstawowe – 4 pierścienie (L, P, S i M) przez które przechodzi centralny rdzeń. Ciało bazalne zakotwicza rzęskę w osłonach komórkowych bakterii (ścianie komórkowej i błonie cytoplazmatycznej).

Ze względu na sposób ułożenia rzęsek na komórce bakteryjnej wyróżnia się następujące typy urzęsienia:

- monotrichalne – pojedyncza rzęska umieszczona biegunowo (Vibrio),
- ditrichalne – pojedyncze rzęski na obu biegunach komórki,
- lofotrichalne – pęczek rzęsek na jednym lub obu biegunach komórki (Helicobacter),
- peritrichalne — rzęski umieszczone dookoła komórki (Proteus).

Komórki bakteryjne mogą tracić rzęski w wyniku:

- mutacji,
- nieodpowiednich warunkach hodowli (np. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*) wytwarzają rzęski w zakresie temperatur 22-30°C, nie wytwarzają w temperaturze 37°C.

5. Fimbrie (pili)

Sztywne, powierzchniowe twory zbudowane z białka piliny (białko immunogenne). Występują u bakterii G(-) oraz nielicznych Gram(+) (*Corynebacterium*, *Streptococcus*). Fimbrie są krótsze i delikatniejsze od rzęsek. Ich liczba na powierzchni komórki jest zróżnicowana (od kilku do kilkuset). Wyróżnia się dwa typy fimbrii: fimbrie płciowe oraz fimbrie adhezyjne (zwykle).

- Fimbrie płciowe – obecne w niewielkiej liczbie (1-3) na powierzchni komórek bakterii Gram(-). Uczestniczą w transferze materiału genetycznego (plazmidy, chromosomalny DNA) z komórki dawcy (F⁺, R⁺, Hfr) do biorcy (F⁻, R⁻, Hfr⁻) w procesie koniugacji. Fimbrie płciowe rozpoznają, a następnie wiążą się z białkiem receptorowym (OmpA) na powierzchni komórki biorcy. Zawierają one kanał umożliwiający przekazywanie materiału genetycznego. Geny kodujące fimbrie płciowe znajdują się w obrębie plazmidów koniugacyjnych. Niektóre fimbrie płciowe są miejscem receptorowym dla bakteriofagów (np. fimbrie F – f1, f2, QB).
- Fimbrie zwykle (adhezyjne) – syntetyzowane w dużej liczbie (kilkaset) na powierzchni komórek bakterii G(-) (*Enterobacteriaceae*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Neisseria gonorrhoeae*). Należą do lektyn – białek rozpoznających i wiążących swoiste receptory (polisacharydy, glikoproteiny, glikolipidy) na komórkach gospodarza. Uznawane za wyznaczniki chorobotwórczości – uczestniczą w adhezji / asocjacji komórek bakteryjnych do powierzchni nabłonka wyściełającego drogi oddechowe, przewód pokarmowy, układ moczowy (kolonizacja).

6. Adhezja

- Adhezja (przyleganie) – trwałe i nieodwracalny związek między komórką bakteryjną a daną powierzchnią. Interakcja ta ma charakter wysoce swoistego wiązania adhezyny (np. fimbrie) do receptora na powierzchni komórki nabłonkowej.
- Asocjacja – odwracalny związek między komórką bakteryjną a określoną powierzchnią, wynikający z sił Van der Waalsa, wiązań wodorowych, interakcji jonowych i hydrofobowych.

Przykłady fimbrii adhezyjnych:

- fimbrie typu 1 (mannozowrażliwe – MS = Mannose Sensitive),
- CFA I, CFA II (Colonization Factor Antigen) kolonizacja nabłonka jelitowego u ludzi,
- fimbrie typu P – kolonizacja nabłonka dróg moczowych u ludzi (uropatogenne szczepy *E. coli*).

Czynniki bakteryjne warunkujące adhezję:

- ujemnie naładowana powierzchnia drobnoustroju,
- hydrofobowość struktur powierzchniowych (białek, lipidów),
- wytwarzane przez drobnoustroje substancje / struktury powierzchniowe uczestniczące w adhezji i / lub adhezyn:
 - śluz,
 - glikokaliks,
 - kwasy tejchojowe,
 - różnorodne białka adhezyjne (intymina – EPEC, EHEC, inwazyiny – *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*),
 - glikoproteiny powierzchniowe,
 - LPS,
 - fimbrie adhezyjne,
 - włókienka – rod-like fimbriae

Struktury komórek i tkanek gospodarza uczestniczące w procesie adhezji drobnoustrojów:

- natywne białka zewnątrzkomórkowej macierzy (ECM – extracellular matrix):
 - obecne na komórce (tkance nabłonkowej) gospodarza,
 - obecne w uszkodzonych tkankach (rany, skrzep)
 - kolagen (15 rodzajów)
 - białka glikozylowane (fibronektyna, laminina, witronektyna),
 - proteoglikany,

- elastyna,
- kwas hialuronowy.
- integryny – glikoproteiny zlokalizowane w błonie komórkowej, odpowiedzialne za wzajemną adhezję komórek oraz adhezję komórek do białek zewnątrzkomórkowej macierzy (ECM)

7. Przetrwalniki (endospory)

Formy przetrwalne (spoczynkowe) wytwarzane przez niektóre rodzaje bakterii (*Bacillus*, *Clostridium*) w niekorzystnych warunkach środowiska (brak wody, substancji odżywczych itp.). Na ogół jedna komórka bakteryjna wytwarza tylko jedną endospore, która może zajmować różne położenie w komórce: centralne, biegunowe lub podbiegunowe. Średnica przetrwalnika może być mniejsza lub większa od średnicy komórki. Proces wytwarzania endospor nosi nazwę sporulacji. Kiełkowanie przetrwalników w sprzyjających warunkach środowiska nazywamy germinacją.

8. Wtręty cytoplazmatyczne

- ziarnistości wolutyny (polimer metafosforanu) – *Corynebacterium diphtheriae*,
- polimer kwasu poli-P-hydroksymasłowego – *Bacillus megaterium*,
- ziarenka wolnej siarki,
- ziarenka skrobi,
- ziarenka lipidów.

GENETYKA BAKTERII

9. Genom bakterii

Na genom bakteryjny składają się: nukleoid (genofor, chromosom), plazmidy, profagi (np. Mu) oraz genetyczne elementy translokacyjne (tj. sekwencje insercyjne – IS, transpozony – Tn oraz integryny)

Plazmidy są to pozachromosomalne czynniki genetyczne, autonomiczne replikony, posiadające własny układ replikacji, niezależny od chromosomu. Niektóre nich (tzw. episomy, np. czynnik F) mają zdolność rekombinacji z genomem bakteryjnym stając się jego integralną częścią. Ze względu na wielkość dzielimy je na: małe (poniżej 25 tys. par zasad) i duże (powyżej 25 tys. par zasad). Ze względu na zdolność do autotransferu dzielimy je na: koniugacyjne (1 – 3 kopii w komórce) np. plazmidy: R, F, Col B, Col V oraz niekoniugacyjne (10 – 100 kopii w komórce) np. plazmidy Col E 1, Col E 2 – są na ogół małe plazmidy zakażające komórki bakteryjne na drodze mobilizacji, transformacji i / lub transdukcji. Obecność plazmidów może warunkować bardzo rozmaite cechy fenotypowe, skąd też ich podział na: płciowe (czynnik F), lekooporności (plazmidy R), bakteriocynogenii (plazmidy Col), warunkujące właściwości metaboliczne (plazmid Hys), warunkujące wirulencję (zjadliwość) bakterii (plazmidy Ent, Hly, CFA I/II), warunkujące syntezę antybiotyków oraz kryptyczne (o nieznannej funkcji).

Do grupy genetycznych elementów translokacyjnych należą:

- sekwencje insercyjne (IS) – kodują integrazę warunkującą translokację między replikonami,
- transpozony (Tn) – zawierają na obu końcach IS, pomiędzy którymi zlokalizowany jest gen (geny) strukturalne warunkujące oporność na antybiotyki, sole metali ciężkich, czynniki wirulencji, właściwości kataboliczne. Transpozony mogą integrować się z różnymi replikonami obecnymi w komórce.
- integryny – sekwencje oflankowane IS zawierające tzw. kasetę genową, do której mogą włączać się geny strukturalne np. warunkujące lekooporność.

Zmienność drobnoustrojów ogólnie dzieli się na mutacyjną i rekombinacyjną, do której należą następujące zjawiska: transformacja, transdukcja, koniugacja.

10. Zmienność mutacyjna

Ze względu na czynnik sprawczy mutacje dzielimy na: spontaniczne (np. oporność na streptomycynę zachodzą z niską częstością (10^{-7} w przeliczeniu na populację bakterii) oraz na indukowane czynnikami mutagennymi zwiększającymi wielokrotnie częstość występowania mutacji (promieniowanie UV, kwas azotowy (III), hydroksyloamina – HA, 5-bromouracyl – BU, 2-aminopuryna – AP, etylosiarczan etylu – EES).

Ze względu na rozmiar mutacje bakteryjne dzielimy na: punktowe (genowe) oraz chromosomowe. Do mutacji genowych należą:

- tranzycje (pur / pur; pir / pir)
- transwersje (pur / pir; pir / pur)

- insercje – dodanie nukleotydu
- delecje – wypadnięcie nukleotydu

Do chromosomowych natomiast:

- inwersje – odwrócenie kolejności nukleotydów
- duplikacje – podwojenie sekwencji nukleotydów
- delecje – wypadnięcie znacznych fragmentów chromosomu
- translokacje – przemieszczenie fragmentów DNA w obrębie chromosomu

Mutacje mogą powodować liczne efekty u bakterii – do przykładowych mutantów bakteryjnych należą:

- mutanty odporne na antybiotyki, np. *Staphylococcus aureus* odporny na metycylinę MRSA,
- mutanty fermentacyjne, np. Lac⁺ → Lac⁻, Gal⁺ → Gal⁻
- mutanty auksotroficzne (wymagające do wzrostu czynnika wzrostowego): aminokwasu (np. Pro-, Try-), zasady organicznej (np. Ade-) czy witaminy (np. Bio-)
- mutanty szorstkie (S →R), np. *Streptococcus pneumoniae* – utrata otoczki, *Enterobacteriaceae* – utrata O-swoistych łańcuchów bocznych LPS

Bakterie przekazują sobie DNA za pomocą trzech podstawowych mechanizmów: koniugacji, transformacji i transdukcji (zmiennosc rekombinacyjna).

11. Koniugacja

Koniugacja jest najczęściej obserwowanym sposobem przekazywania DNA. Jest to przekazywanie materiału genetycznego z komórki dawcy do komórki biorcy – niezbędny jest tu bezpośredni kontakt fizyczny. Raz powstała informacja genetyczna szerzy się pomiędzy bakteriami w wyniku koniugacji, ponieważ jedna na każde 3 spokrewnione bakterie może się zaangażować w taki sposób przenoszenia genu.

Czynnik płciowy F – tzw. czynnik przenoszenia jest cząsteczką, która koduje informację niezbędną do koniugacji. Koniugacja dotyczy dwóch typów komórek: komórek dawców (zawierających F – F⁺) i komórek biorców (bez czynnika – F⁻). Czynniki F zawiera geny specjalnej nici zwanej fimbrią płciową, która bierze udział w koniugacji oraz innych struktur powierzchniowych zaangażowanych w kontakt z komórkami F⁻. Czynniki F jest samoprzekazywalny, gdy zostaje on przekazany do komórki F⁻, staje się wówczas F⁺ i jest zdolna do przekazywania czynnika płciowego innym komórkom F⁻. W ten sposób bakterie nabierają wielooporności na czynniki antybakteryjne.

Kiedy plazmid zawierający czynnik F zostaje włączony do chromosomu bakterii, określa się ją jako komórkę HFR, czyli komórkę szybko rekombinującą. Bakterie HFR działają jako dawcy w czasie koniugacji. Chromosomalny DNA jest replikowany. Jedna nic kopii chromosomu jest przekazywana do komórki biorcy F⁻, a druga pozostaje w HFR. Dawca nie zmienia się genetycznie. Komórki F⁻ otrzymują fragmenty chromosomu, których rozmiar zależy od czasu koniugacji. Czynnikiem ograniczającym przekazywanie genów jest stabilność połączenie między fimbrią płciową a receptorem (białko OmpA). Zazwyczaj wiązanie to zostaje zerwane przed upływem 2 godzin, potrzebnych do przekazania całego chromosomu.

12. Transformacja

Umierająca bakteria uwalnia w sposób ciągły DNA, który może zostać wychwycony przez inne bakterie. Zasada jest, że każdy obcy DNA, kiedy dostaje się do komórki, jest trawiony przez endonukleazy restrykcyjne. Przy spełnieniu pewnych warunków taki DNA może zostać jednak zintegrowany. Transformujący DNA może być chromosomalny lub plazmidowy i zawierać geny, które zmieniają komórkę biorcy. Transformacja może więc prowadzić do rozprzestrzeniania się genów kodujących czynniki zjadliwości pomiędzy populacjami bakterii. Regulacja transformacji zależy od:

- kompetencji, jaką jest zdolność bakterii do wychwytywania DNA i zależy od obecności na błonie komórkowej białek, które mają swoiste powinowactwo do DNA
- cech transformującego DNA (homogenność, podwójna nić i duża masa cząsteczkowa).

Etapy procesu transformacji:

- a) W odwracalnym połączeniu DNA ze ścianą komorową uczestniczą siły jonowe między DNA a ścianą komórkową kompetentnego drobnoustroju. Ten typ połączenia odbywa się u bakterii przez cały czas, ale jeśli komórka nie jest kompetentna, połączenie jest nietrwale i DNA uwalnia się i absorbuje gdzie indziej.
- b) Po przejściu DNA przez ścianę komórkową ustala się nieodwracalne połączenie DNA z wewnętrzną błoną komórkową
- c) Wejście DNA do cytoplazmy w formie pojedynczej nici.
- d) Integracja z chromosomalny DNA wymaga istnienia regionów homologicznych i obejmuje przemieszczenie jednej nici chromosomu, rekombinację wchodzącej nici, eliminację pozostałego fragmentu chromosomu i duplikację wchodzącej nici.

13. Transdukcja

W procesie transdukcji przekazanie DNA z jednej komórki do drugiej odbywa się przez wirusy bakteryjne zwane bakteriofagami. Bakteriofagi mogą oddziaływać na bakterie w dwojaki sposób:

- Zakażenie wirulentne (lityczne) niszczy ostatecznie komórkę bakterii. Bakteriofag wprowadza swój wirusowy DNA do cytoplazmy komórki bakterii, komórkowa polimeraza RNA transkrybuje wirusowy DNA na wirusowy mRNA, który następnie ulega translacji przez rybosomy bakteryjne z wytworzeniem wirusowej polimerazy RNA i innych wczesnych białek. Wirusowa polimeraza RNA syntetyzuje wiele kopii wirusowego kwasu nukleinowego, w cytoplazmie tworzą się potomne białka główek i ogonków. Białka wirusa łączą się z kwasem nukleinowym, tworząc potomne bakteriofagi. Te cząstki potomne mogą prowadzić do rozpadu komórki gospodarza i uwolnienia nowych bakteriofagów.
- Zakażenia umiarkowane = ograniczone = lizogenne = lizogeniczne. Charakteryzuje się włączeniem wirusowego DNA do chromosomu bakteryjnego. Bakterie uzyskują w ten sposób do wszelkich życiowych celów nowy zestaw genów należących do włączonych fagów (profagów). Bakteriofagi wywołujące zakażenia lizogenne są również zdolne do zakażenia litycznego, ale wirulentne bakteriofagi mogą powodować tylko zakażenia lityczne (nie mogą lizogenne). Istnieje kilka znanych przykładów bakterii, których czynniki zjadliwości (zwykle egzotoksyny lub adhezyny) są kodowane przez lizogenne fagi. Bakteria zakażona wirusem lizogeny jest więc zjadliwa, ale nie zakażona kopia jest nieszkodliwa.

Rodzaje transdukcji:

- Transdukcja uogólniona jest wynikiem pomyłki w łączeniu się główek faga napelnianych DNA. Zamiast zlepiania się wokół materiału genetycznego faga gromadzą się wokół fragmentu chromosomu bakterii lub plazmidu. Po włączeniu dostatecznej ilości DNA do główki faga wirusowa endonukleaza przecina DNA, umożliwiając ostateczne skompletowanie cząstek faga zawierających DNA. Powstały fag jest określany jako uogólniona cząstka transdukująca.
- Transdukcja specyficzna czyli organiczna zachodzi wtedy, gdy następuje replikacja profaga w bakterii lizogennej. W czasie wytwarzania plazmidów F' przy pomyłce enzymu tnącego powstaje specyficzny wirus transdukcyjny. Wówczas DNA znajdujących się w cząsteczkach potomnych zawiera małe fragmenty genomu gospodarza, które są zawsze wysoce swoiste, ponieważ pochodzą z obrzeży genomu wirusa (genom wirusa jest zawsze włączany w kilku swoistych miejscach, gdzie istnieje dostateczna homologia, aby umożliwić rekombinację DNA fagowego i bakteryjnego).

METABOLIZM I FIZJOLOGIA BAKTERII

Metabolizm jest to całokształt przemian zachodzących w komórce, obejmujący setki reakcji biochemicznych. Składają się nań:

- anabolizm (metabolizm biosyntetyczny) – reakcje syntezy prowadzące do wytworzenia prostych związków (cukry proste, aminokwasy, zasady purynowe i pirymidynowe kwasy tłuszczowe) oraz ich polimerów (wielocukry, białka, kwasy nukleinowe, lipidy). Reakcje te wymagają nakładu energii (reakcje endoergiczne).
- katabolizm (metabolizm energiotwórczy) – reakcje chemiczne doprowadzające do rozkładu związków organicznych, dostarczające energii (reakcje egzoergiczne) i prekursorów do biosyntezy materiału komórkowego.

14. Asymilacja pierwiastków biogennych

Źródła węgla:

- a) organiczne związki węgla (cukry, aminokwasy, alkohole) to związki bogate w energię, w których węgiel występuje w postaci zredukowanej,
- b) nieorganiczne (mineralne) związki węgla (CO_2 , H_2CO_3 , CO_3^{2-}) to związki utlenione, ubogie w energię, w których węgiel występuje na maksymalnym (+4) stopniu utlenienia.

Autotrofizm

Redukcja nieorganicznych związków węgla do związków organicznych $[(\text{CH}_2\text{O})_n]$. Proces ten wymaga nakładu energii (proces endoergiczny). Organizmy (bakterie) autotroficzne wykorzystują do asymilacji CO_2 zewnętrzne źródła energii:

- Fototrofy (fotoautotrofy) – wykorzystują do asymilacji CO_2 energię świetlną w procesie fotosyntezy.
- Chemolitotrofy (chemolitotrofy) – do asymilacji CO_2 wykorzystują energię chemiczną, zmagazynowaną w zredukowanych związkach nieorganicznych, uwalnianą w czasie ich utleniania (chemosynteza).

Przykłady bakterii:

- fotoautotrofy:
 - bakterie zielone – Chlorobacteriaceae, Heliobacteriaceae,
 - bakterie purpurowe siarkowe – Chromatiaceae,
 - bakterie siarkowe bezsiarkowe – Rhodospirillaceae,
 - sinice (cyjanobakterie).
- chemoautotrofy:
 - bakterie nitryfikacyjne: Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^-$), Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$),
 - bakterie siarkowe: Thiobacillus, Thiospira, Thiolithrix utleniają zredukowane, nieorganiczne związki siarki (H_2S , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-} , CNS^-), jak również siarkę elementarną (S^0),
 - bakterie żelazowe (żelaziste): Thiobacillus ferrooxidans utleniają sole żelazawe do żelazowych ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$),
 - bakterie wodorowe: Hydrogenomonas: $\text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{H} \leftrightarrow 2\text{H}^+$

Heterotrofizm

Większość bakterii przyswaja organiczne (zredukowane) związki węgla. Wśród bakterii heterotroficznych wyróżnia się:

- prototrofy – wymagają do wzrostu: soli mineralnych oraz tylko jednego związku organicznego (np. glukoza, a niekiedy jednowęglowy związek organiczny: metanol, mrówczan, metan)
- auksotrofy – wymagają do wzrostu soli mineralnych, związku organicznego (źródło węgla i energii) oraz tzw. czynników wzrostowych (związków organicznych, których nie potrafią syntetyzować). Przykłady bakterii auksotroficznych:
 - Salmonella typhi – tryptofan,
 - Proteus vulgaris – amid kwasu nikotynowego,
 - Haemophilus influenzae – hem,
 - Staphylococcus aureus – cystyna, adenina, guanina, ksantyna, uracyl, tiamina, kwas nikotynowy.

Źródła azotu:

Azot atmosferyczny – N_2 : układ enzymatyczny zdolny do redukcji N_2 to kompleks nitrogenazy, składający się z dwóch białek: nitrogenazy oraz reduktazy nitrogenazowej

Drobnoustroje zdolne do wiązania azotu atmosferycznego:

- tlenowe bakterie wolnożyjące: Azotobacter, Azomonas,
- beztlenowe bakterie wolnożyjące: Clostridium pasteurianum, C. butyricum, Desulfovibrio,
- fotoautotrofy: Chlorobium, Rhodospirillum,
- chemolitotrofy: Thiobacillus ferrooxidans,
- symbionty roślin (symbioza z komórkami korzenia roślin motylkowych Fabaceae): Rhizobium, Frankia, Azospirillum, sinice: Nostoc, Anabena, Gleocapsa.

Inne źródła azotu:

- sole amonowe (NH_4^+)
- azotany (NO_3^-) – azot przed wbudowaniem w związki organiczne musi ulec redukcji do jonu amonowego
- aminokwasy

Źródła siarki:

Siarka, podobnie jak węgiel i azot występuje w biogenych związkach organicznych w postaci zredukowanej (grupa sulfhydrylowa = tiolowa = $-\text{SH}$). Bakterie korzystają z następujących źródeł siarki: siarczany (SO_4^{2-}), siarczyny (SO_3^{2-}), tiosiarczany ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), aminokwasy zawierające siarkę (metionina, cysteina, cystyna), witaminy (biotyna). Przed włączeniem do związków organicznych musi zostać zredukowana do S^{2-} (proces endoergiczny).

Asymilacja innych pierwiastków:

- fosfor – jon fosforanowy (PO_4^{3-}); w takiej też postaci występuje w związkach organicznych (ATP, nukleotydy, kwasy nukleinowe).
- kationy metali – sole mineralne, związki metaloorganiczne (hem – źródło żelaza dla Haemophilus influenzae)
- tlen, wodór – woda, powietrze.

15. Oddychanie – utlenianie biologiczne

Wieloetapowy proces egzoergiczny, w którym energia utlenianego substratu zostaje zmagazynowana w wysokoenergetycznych cząsteczkach ATP. Energia wiązań ATP jest wykorzystywana przez organizm do przeprowadzania reakcji endoergicznych (synteza związków organicznych) lub przekształcana w energię cieplną, mechaniczną, świetlną, elektryczną.

Mechanizmy tworzenia ATP:

- fosforylacja substratowa: glikoliza, cykl pentozowy, fermentacje
- fosforylacja oksydacyjna: transport elektronów w łańcuchu oddechowym

Do mechanizmów utleniania biologicznego zaliczamy: oddychanie tlenowe, oddychanie beztlenowe oraz różne rodzaje fermentacji.

- a) Oddychanie tlenowe – ostatecznym akceptorem oderwanych od substratu elektronów jest tlen cząsteczkowy. Elektrony oderwane od substratu oddechowego są przekazywane na przenośniki o wzrastającym potencjale oksydoredukcyjnym (łańcuch oddechowy). ATP powstaje w wyniku fosforylacji oksydatywnej.
- b) Oddychanie beztlenowe – ostatecznym biorcą elektronów jest zewnątrzpochozny związek organiczny (fumarany) lub utleniony związek nieorganiczny (azotan, siarczan, węglan). ATP powstaje w wyniku fosforylacji oksydatywnej. Łańcuch oddechowy krótszy niż przy oddychaniu tlenowym. Proces ten jest bardziej wydajny niż fermentacja, mniej wydajny w porównaniu z oddychaniem tlenowym.
 - Redukcja azotanów do azotynów, NO, N₂O, N₂ lub NH₃. Gazowe produkty opuszczają środowisko (denitryfikacja) – zubożenia gleby w azot.
 - Redukcja siarczanów do H₂S.
 - Redukcja węglanów lub CO₂ do metanu (bakterie metanogenne)
- c) Fermentacja – część cząsteczki substratu jest utleniana, a część odbierająca elektrony – redukowana. Brak zewnętrznego akceptora elektronów; ATP powstaje w wyniku fosforylacji substratowej.
 - fermentacje via glikoliza
 - homofermentacja mlekowa – *Lactobacillus lactis*, *L. delbrueckii*
 - fermentacja Enterobacteriaceae – pałeczki jelitowe
 - fermentacja alkoholowa – *Saccharomyces cerevisiae*
 - fermentacja masłowa – *Clostridium butyricum*
 - fermentacja acetonowo-butanolowa – *C. acetobutylicum*
 - fermentacja propionowa – *Propionibacterium*
 - fermentacje bez glikolizy
 - heterofermentacja mlekowa (via cykl pentozowy) *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc*
 - alkoholowa (via cykl pentozowy) *Zymomonas mobilis*
 - fermentacja *Bifidobacterium* (via szlak Entnera-Doudoroffa) *Bifidobacterium bifidum*

Niewęglowodanowe substraty oddechowe:

- związki jednowęgłowe (C1): CH₄ jest utleniany poprzez metanol, aldehyd mrówkowy i kwas mrówkowy do CO₂
- związki dwuwęgłowe (C2):
 - octan → fosforylacja do acetylofosforanu → przekształcenie do AcCoA → cykl Krebsa
 - etanol, aldehyd octowy → utlenienie do octanu – dalsze przemiany j. w.
 - glioksalan (CHO-COOH) → utlenienie w cyklu glioksalowym lub cyklu kwasów dikarboksylowych.
- tłuszcze (triacyloglicerole):
 - gliceryna – przekształcana w fosfodihydroksyaceton, który zostaje włączony do glikolizy
 - kwasy tłuszczowe – β-oksydacja → odrywanie od łańcucha alifatycznego reszt dwuwęglowych (octanowych) → przekształcenie ich w acetylo-Co-A → degradacja w cyklu Krebsa
- aminokwasy:
 - sprzężona oksydoredukcja dwóch aminokwasów – reakcja Sticklanda:
np. alanina + 2 glicyna → 3 kwas octowy + 3 NH₃ + CO₂; kwas octowy po przekształceniu w acetylo-Co-A jest metabolizowany w cyklu Krebsa.
 - dezaminacja aminokwasów → intermedjaty cyklu Krebsa
- związki purynowe: kwas moczowy, ksantyna, guanina → wytwarzanie octanu, mrówczanu, amoniaku i CO₂

16. Podłoża mikrobiologiczne

- podłoża specjalne – definicje:
 - podłoże wzbogacone – wzrost wymagających organizmów i niekiedy wykluczenie niewystarczających, np. CZ
 - podłoże wybiórcze – hamuje wzrost bakterii innych niż poszukiwane, np. Thayer – Martin (CZ + 4 antybiotyki, wybiórcze) dla Neisseria
 - podłoże różnicujące – określenie swoistych cech biochemicznych bakterii, np. McConkey (MC, fiolet krystaliczny i sole żółci hamujące wzrost G(+) oraz czerwien obojętna jako indykator) – wzrost większości bakterii G(-) (pałeczki) i podział ich na lac(+) oraz lac(-)
 - podłoża do hodowli bakterii beztlenowych – są wzbogacone, redukują tlen cząsteczkowy; np. agar Schedlera albo podłoże tioglikolanowe (TG)
- najczęściej stosowane podłoża hodowlane:
 - agar z krwią (AK, namnażające) – zawiera nie uszkodzone czerwone krwinki baranie; uwidacznia morfologię bakterii, wytwarzanie przezeń barwników oraz obecność i rodzaj hemolizy; nadaje się do posiewu wszystkich materiałów poza kałem
 - agar czekoladowy, podłoże Casmana (CZ, namnażające i wzbogacone) – zawiera ogrzane krwinki baranie, które pod wpływem tego procesu uwalniają NAD (czynnik V) oraz heminę (czynnik X); niektóre bakterie (Haemophilus, Neisseria) wymagają ich do wzrostu
- inne:
 - agar SS – różnicowanie Salmonella (+) i Shigella (-) na podstawie zdolności do wytwarzania H₂S (czernienie podłoża)
 - podłoże Lowensteina – Jensena – wyciąg z jaj + zielen malachitowa – na Mycobacterium tuberculosis
 - podłoże Middlebrooka – przezroczyste, również na Mycobacterium tuberculosis
 - Roiron – do hodowli gonokoków
 - agar Tindale’a (z tellurkiem potasu) (wzbogacone i wybiórcze) oraz podłoże Loefflera – na Corynebacterium diphtheriae
 - Sabraud – (z glukozą, pH=5,6, cykloheksamid / penicylina / streptomycyna / inny antybiotyk) – na grzyby
 - Chrom agar – różnicowanie gatunkowe grzybów Candida na podstawie koloru kolonii
 - AK + kolistyna + kwas nalidyksowy (wybiórcze) – hamują G(-), a promują G(+)
 - agar węglowy + wyciąg z drożdży (wzbogacone, węgiel + 3 antybiotyki) – na Legionella

17. Metody hodowli bakterii beztlenowych

Beztlenowe metody hodowli bakterii prowadzi się eliminując ze środowiska hodowlanego tlen następującymi metodami:

- fizycznymi – np. wypompowanie tlenu ze środowiska lub przez hodowlę bakterii w pożywce płynnej zawierającej tkankę zwierzęcą (kawałki wątroby, nerki lub mięśnia sercowego np. pożywka Wrzoska) lub tkankę roślinną (marchew, ziemniak), które adsorbują tlen ze środowiska hodowlanego;
- chemicznymi – zastosowanie substancji wiążących tlen, np. podsiarczynu sodu, alkalicznego roztworu trioksybenzenu (pirogallolu), a także środków chemicznych redukujących tlen glukoza, kwas askorbinowy, cysteina, siarczyn sodowy);
- biologicznymi – wspólna hodowla drobnoustrojów tlenowych i beztlenowych w dwóch oddzielonych od siebie częściach płytki Petriego szczelnie oklejonej parafiną lub plasteliną. Wyrastający wcześniej organizm tlenowy wykorzystuje tlen ze środowiska umożliwiając rozwój organizmu beztlenowego (metoda Fortnera). Niezbędnym warunkiem prowadzenia tej metody jest zastosowanie składnika pożywki, która jest optymalna zarówno dla tlenowców jak i beztlenowców. Metodę tą można zastosować do hodowli beztlenowych bakterii amylolicznych (Clostridium acetobutylicum, Clostridium pasteurianum) w obecności Bacillus subtilis, Serratia marcescens lub Candida mycoderma.

Metody hodowli beztlenowców:

- pożywki z dodatkiem czynników redukujących, np. podłoże tioglikolanowe (wskaźnik rezorcyna przyjmuje kolor czerwony w warunkach tlenowych)
- pożywki odpowietrzane przez gotowanie, nawarstwione parafiną, np. podłoże Tarrozziego – Wrzoska,
- metody biologiczne – odwrotna płytka Fortnera,
- inkubacja hodowli w atmosferze beztlenowej uzyskanej:
 - w anaerostatach (odpompowanie powietrza z pojemnika)
 - metodą chemiczną w tzw. żarach, z wykorzystaniem związków pochłaniających tlen, np. alkaliczny pirogallol,
 - w eksykatorach: świeczka → hodowla mikroaerofili

18. Mechanizmy chorobotwórczości bakterii

Czynniki zjadliwości to cechy charakterystyczne bakterii umożliwiające im wywoływanie chorób. Bakterie mogą mieć ich jeden lub więcej. Niektóre (wspólne dla rodzaju / gatunku) powstały w drodze ewolucji, inne zaś (znamienne dla szczepu) zostały nabyte w wyniku wymiany genetycznej. Medycyna wykorzystuje zmodyfikowane czynniki wirulencji do szczepień oraz immunoprofilaktyki.

Do czynników zjadliwości należą: otoczki, adhezyny, inwazyjność, egzoenzymy oraz toksyny (endo- i egzo-).

- a) Otoczki są jednym z najczęstszych czynników zjadliwości. Występują one na zewnątrz ściany komórkowej i pozwalają bakteriom na uniknięcie lub przeżycie fagocytozy. Otoczkowe formy bakterii są z reguły patogenne, bezotoczkowe – nie. Otoczki wytwarzane są przez enzymy ściany komórkowej, które syntetyzują ochronną warstwę polimeru, najczęściej polisacharydu. Wytwarzanie otoczek jest zdeterminowane genetycznie, a zdolność ta może być przekazywana np. w drodze transdukcji. Otoczki w różny sposób zapobiegają fagocytozie:
- zaburzają interakcję między przeciwciałem i C3 związanym z zewnętrzną błoną bakterii a ich receptorami na komórkach fagocytujących,
 - zapobiegają tworzeniu się C3b, Bb, ograniczając aktywację C3 drogą alternatywną.
- b) Adhezyny – przyleganie do komórek śluzówki to często pierwszy etap choroby, gdyby bowiem nie czynniki adhezyjne, bakterie szybko zostałyby wypłukane. Czynniki oddziałują na komórki w zależności od receptorów, do których wykazują powinowactwo – tłumaczy do osiadanie w różnych narządach po dostaniu się bakterii do krążenia systemowego. Czynniki adhezyjne są strukturami powierzchniowymi:
- w większości przypadków są to fimbrie, niekiedy określane jako antygeny czynnika kolonizacyjnego = colonization factor antygen (CFA),
 - boczne łańcuchy LPS (antygeny O) również odgrywają rolę w adhezji,
 - białko M – ułatwia przyleganie *S. pyogenes* do nabłonka gardła, przez co jest jego najważniejszym czynnikiem zjadliwości.
- c) Inwazyjność to proces złożony i przebiegający różnie u różnych bakterii.
- U rodzaju *Shigella* na błonie zewnętrznej ulegają ekspresji antygeny plazmidu inwazyjności = invasion plasmid antigenes (Ipa) i białko Ics B (intracellular spread = rozprzestrzenianie międzykomórkowe). Wpierw Ipa pozwala na związanie się z powierzchnią komórki M, następnie zachodzi endocytoza i przedostanie do cytoplazmy, gdzie Ics B umożliwia interakcję z białkami cytoszkieletu – dzięki temu bakteria może wędrować i błony i przedostawać się do następnej komórki.
 - U *N. gonorrhoeae* to fimbrie pozwalają na przyleganie do śluzówki, a ponadto zawierają enzym rozpuszczający podściółkę śluzówki, pozwalając na penetrację do tkanek podśluzówkowych.
- d) Egzoenzymy = enzymy wydzielnicze, tj. wydzielane na zewnątrz bakterii. Mają one różna działanie:
- rozkładają kolagen (kolagenazy i hialuronidazy) i włóknik (fibrylizyny), umożliwiając lepszą penetrację do tkanek,
 - rozkładają materiał komórkowy (proteiny i lecytyny) – występują u rodzaju *Clostridium*,
 - modyfikują i inaktywują antybiotyki (np. β -laktamazy), stanowiąc mechanizm oporności.
- e) Toksyny można podzielić na endotoksyny i egzotoksyny.
- Egzotoksyny to białka wytwarzane i uwalniane z komórki w celu wywołania toksyczności. Mogą być wspólne dla wszystkich bakterii z rodzaju / gatunku (kodowane przez geny chromosomalne) lub charakterystyczne wyłącznie dla szczepu patogenego (kodowane przez plazmidy i fagi lizogenne). Większość egzotoksyn składa się z domeny wiążącej oraz domeny aktywnej – pierwsza łączy się z określonym receptorem i determinuje rodzaj atakowanej tkanki, wówczas druga ulega internalizacji i wywiera efekt toksyczny (rzadko toksyczność polega na zablokowaniu samego miejsca wiązania). Toksyny można podzielić na:
- enterotoksyny – działają na przewód pokarmowy, np. toksyny ciepłochwienne (LT-I, LT-II), ciepłotałe (ST) czy toksyna cholery,
 - neurotoksyny – działają na układ nerwowy, np. toksyna botulinowa i tężcowa (tetanospazmina),
 - cytotoxyny – działają na komórki różnych tkanek, np. toksyna błonicy i toksyna A *Pseudomonas*.
- Endotoksyny są lipopolisacharydami (LPS) pochodzącymi ze ściany komórkowej bakterii G(-). Endotoksyny różnych bakterii różnią się siłą i zdolnością do wywoływania objawów klinicznych. Nie są one wydzielane aktywnie – uwalniane są w momencie śmierci (lizy) bakterii. Endotoksyny są odpowiedzialne za rozwój posocznicy i wstrząsu septycznego, które charakteryzują się hipotensją, gorączką, leukopenią, zahamowaniem fagocytozy i ciężką biegunką. Patogeneza obejmuje aktywację makrofagów i uwolnienie cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8), odpowiedzialnych za większość objawów ogólnoustrojowych. Posocznica i wstrząs septyczny są związane z dużą chorobowością i śmiertelnością.

cecha	endotoksyny	egzotoksyny
źródło	G(-)	G(+) i G(-)
skład chemiczny	lipopolisacharyd	białko
toksyczna cząsteczka	lipid A	domena aktywna
cząsteczka antygenowa	lipopolisacharyd	białko
wrażliwość na temperaturę	stabilna	labilna
swoistość gatunkowa	-	+
uwalnianie z komórki	liza bakterii	aktywne

19. Unikanie odpowiedzi immunologicznej

Wiele czynników zakaźnych stworzyło mechanizmy, które pozwalają im uniknąć eliminacji przez swoiste i nieswoiste mechanizmy obrony.

- a) otoczki antyfagocytarne – wykrywane u G(+)/(-) i drożdży, zapobiegają fagocytozie lub chronią już pochłonięte bakterie przed enzymami proteolitycznymi; hamowanie może wiązać się z:
 - działaniem ładunku elektrycznego, który może odpychać fagocyty,
 - słabą immunogennością – polisacharydy otoczkowe bywają antygenami T – niezależnymi, stymulując odpowiedź z udziałem nieskutecznej opsoniny IgM,
 - działaniem antykomplementarnym
- b) działanie antykomplementarne – wykazują je otoczki bakteryjne oraz zewnętrzne białka niektórych bakterii:
 - białko M u paciorkowca gr. A – unieczynniana konwertazy dopełniacza, zapobiegając jego aktywacji na drodze alternatywnej,
 - proteaza Pla u *Yersinia pestis* – rozszczepia C3 i C5a (?), zmniejszając uwalnianie tego chemotaktycznego fragmentu
- c) unikanie wewnątrzkomórkowego strawienia – jest mechanizmem wspólnym dla bakterii, wirusów i pasożytów; drobnoustroje mogą:
 - wydzielać cząsteczki zapobiegające powstawaniu funkcjonalnych fagolizosomów, co pozwala przeżyć wewnątrz fagosomów z niskimi poziomami związków przeciwdrobnoustrojowych,
 - syntetyzować zewnętrzną warstwę lub enzym, które chronią je przed proteazami i wolnymi rodnikami,
 - przemieszczać się z fagosomu do cytoplazmy, gdzie są chronione przez proteazami i RFT,
 - syntetyzować związki neutralizujące aktywujące działanie IFN- γ
- d) bezpośrednie przenoszenie się z komórki do komórki – zaobserwowane u bakterii (*Listeria*) i wirusów (HSV, HIV), pozwalają na uniknięcie działania przeciwciał przeciwwirusowych
- e) interferencja z ekspresją MHC na błonach zakażonych komórek – zapobiega lub zmniejsza rozpoznanie zakażonych komórek przez układ immunologiczny, występuje u niektórych wewnątrzkomórkowych drobnoustrojów, zwłaszcza wirusów
- f) zmienność antygenowa – opisana u bakterii (*S. typhimurium*, *B. reccurentis*), pasożytów (*Trypanosoma*, *Giardia lamblia*) i wirusów (HIV)
 - u *S. typhimurium* jednym z głównych składników antygenowych są rzęski, a zmienność fazowa pozwala na zmianę jednego typu rzęsek na drugi (H1 i H2),
 - bakterie *Borrelia* zmieniają antygenowość białek błony komórkowej przez selektywną aktywację puli przynajmniej 26 genów kodujących tzw. zmienne główne białka – mutanty mogą mnożyć się niezagrożone aż do czasu wytworzenia przeciwciał (kolejne fale bakteremii i gorączki wiążą się z pojawieniem nowych mutantów),
 - świdrowiec (*Trypanosoma*) jest zdolny do unikania odpowiedzi, gdyż tylko 1 z 10^3 genów w chromosomie koduje pojedyncze białko; na każdy z 10^{6-7} podziałów dochodzi do mutacji i zastąpienia aktywnego genu z miejsca ekspresji genem uprzednio uśpionym; nowy gen koduje antygenowo odmienną glikoproteinę, która pozwala zmutowanemu szczepowi mnożyć się bez problemu do czasu wytworzenia nowych przeciwciał – wówczas dochodzi do nowej mutacji i rozpoczęcia syntezy trzeciej glikoproteiny itd.,
 - *Plasmodium falciparum* (czynnik etiologiczny malarii) – potrafi unikać odpowiedzi immunologicznej z powodu okresowego przełączania genu kodującego białko wbudowywane w błonę zakażonych erytrocytów, przeciwko któremu odpowiedź jest skierowana
- g) interferencja z odpowiedzią immunologiczną – jest powszechnym mechanizmem uniknięcia w różnoraki sposób reakcji immunologicznej
 - interferencja ze stadiami indukcji odpowiedzi immunologicznej – niektóre wewnątrzkomórkowe bakterie i wielokomórkowe pasożyty ingerują w indukcję CMI przez zaburzenie obwodów immunoregulacyjnych,
 - interferencja z efektorowymi mechanizmami immunologicznymi
 - synteza nieskutecznych przeciwciał (czynników blokujących) zapobiega rozpoznaniu czynnika zakaźnego – np. w surowicy pojawiają się duże ilości IgA nie wiążących dopełniacza (meningokokowe zapalenie opon, uporcezywa zakażenia wirusowe),

- Schistosoma – stosuje pobudzenie monocytów supresorowych, hamowanie ekspresji białek powierzchniowych oraz adsorpcję na zewnętrznej powierzchni białek gospodarza

Wirusy nabyły wiele mechanizmów, które pozwalają im uniknąć odpowiedzi immunologicznej. Niektóre sposoby polegają na interferencji z odpowiedzią immunologiczną, a inne – na mechanizmach unikania.

- Integracja genomu jest obserwowana wyłącznie u wirusów DNA i retrowirusów. Gdy dojdzie do integracji genomu, wirus ma możliwość replikacji i rozprzestrzeniania się na inne komórki, a także może być przekazywany komórkom potomnym komórek zakażonych. To ostatnie wystąpi nawet w komórkach z niewielką ekspresją wirusa, co pozwala na przetrwanie zakażenia z minimalnym zaangażowaniem układu immunologicznego.
- Bezpośrednie przekazywanie zakażenia z komórki na komórkę (np. herpeswirusy, paramiksowirusy, HIV) – tworzą się wówczas olbrzymie, wielojądrowe komórki i zespólnie (syncytia).
- Zakażenie komórek nie mających antygenów MHC-I (np. neurony), trudnych do rozpoznania przez układ immunologiczny.
- Hamowanie ekspresji kompleksu MHC – peptyd wirusowy przez zaburzenie łączenia go z białkami transportującymi (adenowirusy).
- Zmienność antygenowa – dobrze opisana dla HIV, wynik błędów odwrotnej transkryptazy. Mutacje modyfikują antygenowość GP120 w takim stopniu, że wcześniej wytworzone przeciwciała nie rozpoznają mutanta.
- Modulacja antygenowa – utrata antygenów zaangażowanych w rozpoznanie zakażonych komórek przez układ immunologiczny – patogeneza np. podostrego stwardniającego zapalenia mózgu (SSPE).
- Hamowanie efektorowych mechanizmów immunologicznych
 - Niektóre pokswirusy uwalniają rozpuszczalne cząsteczki homologiczne z receptorami dla IFN i TNF- α (wiroreceptory), blokujące przeciwwirusowe działanie cytokin.
 - Główne białko wydzielnicze wirusa krowianki jest homologiczne z białkiem hamującym C4 i zapobiega uruchamianiu klasycznej drogi aktywacji dopełniacza.
 - HBV indukuje syntezę wielkich ilości rozpuszczalnego HBsAg przez zakażone komórki, który blokuje przeciwciała przeciwwirusowe, zanim dotrą do zakaźnych cząstek wirusa, działając jako osłona przed przeciwciałami neutralizującymi.

ANTYBIOTYKI

20. Antybiotyki β -laktamowe

Stanowią najliczniejszą i najczęściej stosowaną w terapii grupę antybiotyków. Dzieli się na 5 głównych grup: penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy, karbapenemy oraz inhibitory β -laktamaz. Wspólną cechą tych antybiotyków jest obecność pierścienia β -laktamowego, który warunkuje aktywność przeciwbakteryjną. Przerwanie integralności pierścienia (hydroliza wiązania amidowego) spowodowane działaniem β -laktamaz wytwarzanych przez szczepy odporne, prowadzi do utraty działania przeciwbakteryjnego.

Penicyliny

Penicyliny są naturalnie wytwarzane przez pleśń grzyba *Penicillium*. Chemicznie zawierają w cząsteczce pierścień β -laktamowy oraz tiazolidynowy, są pochodnymi kwasu 6-aminopenicylinowego. Podstawą ich aktywności jest powinowactwo do białek wiążących penicyliny = penicylin-binding proteins (PBP, np.: transpeptydaza, karboksypeptydaza, autolizyna). Mechanizm działania polega na blokowaniu aktywności transpeptydaz biorących udział w ostatnim etapie syntezy peptydoglikanu ściany komórkowej bakterii. Bakterie pozbawione sztywnej struktury ściany łatwo ulegają lizie pod wpływem enzymów autolitycznych. Poszczególne preparaty antybiotyków β -laktamowych mają zróżnicowane powinowactwo do PBP. Białka te oznaczono cyframi arabskimi (1-11), wykazano że wszystkie antybiotyki β -laktamowe wiążą kowalencyjnie PBP-3 lub -1, a w mniejszym stopniu także inne. Preparaty, które wiążą PBP-3 indukują tworzenie form nitkowatych bakterii; najpierw następuje uszkodzenie przegród międzykomórkowych w czasie podziału, w wyniku czego tworzą się formy wydłużone, następnie – uszkodzenie ściany komórkowej i w konsekwencji aktywacja enzymów autolitycznych (hydrolazy), ostatecznie – wylanie zawartości komórki i śmierć. Antybiotyki o dużym powinowactwie do PBP-2 indukują tworzenie form sferycznych, wrażliwych na wahania ciśnienia osmotycznego.

Aktywność antybiotyków zależy od:

- powinowactwa antybiotyków do białka,
- zdolności penetracji do wnętrza komórki,
- oporności na działanie β -laktamaz.

Antybiotyki β -laktamowe mają działanie bakteriobójcze, zależne od czasu, w którym stężenie w surowicy (ognisku zakażenia) przekracza wartość MIC wobec szczepu odpowiedzialnego za zakażenie ($T > MIC$).

Podział:

- naturalne – wąski zakres (G^+ , większość beztlenowców)
- półsyntetyczne (metycylina, oksacylina, nafcylina, kloksacylina, dikloksacyna) – j. w. + *S. aureus*
- rozszerzony zakres (aminopenicyliny – ampicylina, amoksycylina, karboksypenicyliny – karbenicylina, tykorcylina, ureidopenicyliny – azlocylina, penicyliny piperazyne – piperacylina) – G^- *Pseudomonas*

Zalety: niska toksyczność, znakomity efekt bakteriobójczy, dobra penetracja do narządów i tkanek.

Wady: znaczna wrażliwość na β -laktamazy, szybka eliminacja z ustroju (konieczność częstego dawkowania), alergie (wstrząs anafilaktyczny).

Ze względu na inaktywację penicylin przez enzymy bakteryjne opracowano nowe preparaty skojarzone antybiotyku z inhibitorem enzymu. Preparaty te wykazują aktywność wobec części szczepów opornych, których mechanizm oporności związany jest z syntezą β -laktamazy. Skuteczność zależy od zdolności unieczynniania β -laktamazy przez inhibitor i uwarunkowana jest rodzajem wytwarzanego enzymu (*Haemophilus influenzae* wytwarzający β -laktamazę wrażliwy na preparaty skojarzone, odporne na penicyliny). Przykładami inhibitorów β -laktamaz są kwas klawulanowy i sulbaktam. Przykładem preparatu skojarzonego jest Augmentin® (amoksycylina + kwas klawulanowy).

Antybiotyki β -laktamowe mogą być bezpiecznie kojarzone z aminoglikozydami. Efektem tego kojarzenia może być synergizm (potęgowanie efektu) lub addycja (sumowanie efektu), natomiast nigdy nie stwierdza się antagonizmu. Jest to szczególnie istotne w leczeniu zakażeń (bakteryjne zapalenie wsierdza) o etiologii *Enterococcus faecalis* lub *Enterococcus faecium*, gdyż same β -laktamy nie wykazują odpowiedniego efektu bakteriobójczego, a aminoglikozydy nie są dostatecznie aktywne.

Cefalosporyny

Cefalosporyny są antybiotykami półsyntetycznymi. Zawierają w cząsteczce pierścień β -laktamowy i dihydrothiazynowy, stanowią pochodne kwasu 7-aminocefalosporynowego. Cefalosporyny hamują tworzenie mostków łączących podjednostki peptydoglikanu w integralną całość. Proces ten katalizują bakteryjne PBP umiejscowione w błonie komórkowej bakterii, z którymi łączy się cząsteczek antybiotyku cefalosporynowego. Wiążą się z miejscem aktywnym kowalencyjnie (stanowi je Ser) transpeptydaz i karboksypeptydaz, przez co hamują dojrzewanie i podział. Wnikają do komórek przez kanały porowe utworzone przez białka *OmpC* i *OmpF* (ich mutacja i enzymy rozkładające β -laktamazy to jedne z głównych mechanizmów oporności na cefalosporyny).

Cefalosporyny dzielą się na 4 generacje – obok spektrum przeciwbakteryjnego preparaty te różnią się zasadniczo wrażliwością na hydrolityczne działania β -laktamaz oraz właściwościami farmakokinetycznymi. Wspólną właściwością cefalosporyn niezależnie od generacji jest brak aktywności w stosunku do enterokoków, MRSA, pałeczek G^+ z gatunku *Listeria monocytogenes*, a także G^- pałeczek beztlenowych (parę wyjątków).

Cefalosporyny wykazują szeroki zakres aktywności i oporność na β -laktamazy gronkowcowe, a II i III generacja jest dodatkowo oporna na β -laktamazy bakterii G^- .

I generacja – droga doustna i parenteralna; przykłady: cefazolina, cefaleksyna, cefalatyna; nie penetrują do OUN, więc nie powinny być stosowane w leczeniu zakażeń tego układu

II generacja – głównie droga parenteralna; przykłady: cefamandol, cefaklor, cefoksytyna, cefuroksym

III generacja – głównie droga parenteralna; przykłady: cefotaksym, ceftriakson; większa część generacji III cefalosporyn doustnych nie wykazuje aktywności w stosunku do gronkowców

IV generacja – np. cefepim

Do PMR penetrują: cefotaksym, ceftazyksym, ceftriakson, ceftazydym i cefuroksym.

Zalety: odporne na klasyczne β -laktamazy, dobra penetracja do tkanek i narządów.

Wady: reakcje alergiczne (wysypka, pokrzywka, wstrząs anafilaktyczny), rzadko działanie nefrotoksyczne, biegunka, nietolerancja alkoholu.

Monobaktamy

Przykładami są aztreonam i karumonam. Pod względem chemicznym monobaktamy to monocykliczne β -laktamy. Posiadają mechanizm działania taki jak inne β -laktamy. Działają bakteriobójczo tylko w stosunku do tlenowych bakterii G^- , zarówno ziarniaków (*Neisseria*), jak i pałeczek (*Enterobacteriaceae*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*), nie działają natomiast na *Acinetobacter* i *Alcaligenes*; znaczna oporność na β -laktamazy bakterii G^-

Karbapenemy

Przykładami są imipenem i meropenem. Chemicznie mają taką budowę, jak penicyliny, przy czym atom siarki zastąpiony został atomem węgla. Karbapenemy posiadają najszersze możliwe spektrum, jakie udało się uzyskać – wykazują aktywność wobec wszystkich drobnoustrojów tlenowych i beztlenowych, a ich zaletą jest znaczna

oporność na działanie β -laktamaz bakteryjnych, w tych enzymów chromosomalnych – cefalosporynaz. Wykazują szczególne powinowactwo do PBP-2 Nie działają na: *Listeria*, paciorkowce grupy D, *Pseudomonas*, *Pasteurella multocida*. Efekt działania jest zależny od czasu, w którym stężenie jest większe od MIC ($T > MIC$). Karbapenemy wykazują efekt poantybiotyczny, wzbudzają chemotaksję, przyleganie, fagocytozę, opsonizację i syntezę dla składnika dopełniacza C3. Penetrują do PMR tylko w stanie zapalenia opon mózgowych. Wydalane są przez nerki w niezmienionej postaci.
Zalety: bezpieczne w terapii empirycznej.
Wady: neurotoksyczność (drgawki).

21. Aminoglikozydy

Są to antybiotyki o działanie bakteriobójczym. Efekt ich działania zależy od stężenia antybiotyku w środowisku bakterii. Podstawowa jednostką strukturalną tych antybiotyków stanowi aminocukier (stąd też nazwa). Zbudowane są z 2 lub 3 aminocukrów połączonych wiązaniami glikozydowymi z jądrem, którym jest albo streptydyna (streptomycyna) lub 2-dezoksystreptomina (gentamycyna). Antybiotyki te wiążą się w sposób trwały z podjednostką rybosomu 30S, co prowadzi do zaburzenia odczytu informacji genetycznej i zahamowania syntezy białek bakteryjnych. Pierwszym etapem poprzedzającym związanie antybiotyku z rybosomem jest aktywny transport leku, zachodzący przy udziale tlenu i energii. Transport ulega zahamowaniu w warunkach beztlenowych i przy niskim pH. Wychwyty ulega nasileniu z obecności wiązań blokujących biosyntezę ściany komórkowej. Transport i działanie aminoglikozydów odbywa się w 3 etapach:

- bierne wiązania antybiotyku z receptorami dla Ca^{2+} i Mg^{2+}
- energo-zależny transport zachodzący przy udziale sił elektrostatycznych
- wiązanie z podjednostką 30S rybosomu i blokada syntezy białka na poziomie translacji.

Do grupy aminoglikozydów należą:

- a) naturalne: streptomycyna, gentamycyna, neomycyna, tobramycyna, kanamycyna
- b) półsyntetyczne: amikacyna, isepamycyna, netylmycyna

Spektrum przeciwbakteryjne obejmuje:

- bakterie G(-), zwłaszcza pałeczki, z wyjątkiem *Haemophilus*,
- prątki gruźlicy (najwyższa aktywność – streptomycyna),
- paciorkowce (synergizm z β -laktamami przez zwiększenie przepuszczalności),
- gronkowce (tylko niektóre preparaty).

Nie wszystkie antybiotyki tej grupy wykazują identyczną aktywność wobec określonych szczepów bakteryjnych. Streptomycyna i kanamycyna nie są wykorzystywane do leczenia zakażeń wywołanych przez bakterie G(-). Oporność pozostałych jest zróżnicowana.

Wszystkie antybiotyki z tej grupy z wyjątkiem neomycyny nie wchłaniają się z przewodu pokarmowego. Absorpcja po podaniu domięśniowym jest bardzo dobra. Zmiennie penetrują do narządów i tkanek; źle przenikają do PMR i kości.

Wady: ototoksyczność (działanie nieodwracalne, utrata słuchu – wysokie tony), nefrotoksyczność (działanie odwracalne).

22. Tetracykliny

Są to związki wielocząsteczkowe, naturalne i półsyntetyczne. Składają się z 4 pierścieni karbocyklicznych o działaniu bakteriostatycznym. Mechanizm działania polega na blokowaniu biosyntezy białka na poziomie rybosomu (podjednostka 30S). Przykłady: doksycyklina i minocyklina. Charakteryzują się szerokim spektrum, obejmującym G(+)/(-), drobnoustroje atypowe oraz krętki. Poszczególne antybiotyki z tej grupy różnią się właściwościami farmakokinetycznymi, natomiast spektrum przeciwbakteryjne jest identyczne, a różnice dotyczą tylko aktywności. Stosuje się w leczeniu nieswoistego zapalenia cewki moczowej o etiologii *Ch. trachomatis* oraz *U. urealiticum*, boreliozy (leki z wyboru), dżumy, brucelozy, nieswoistych zakażeń dróg oddechowych, zapalenia w obrębie miednicy mniejszej, trądziku młodzieńczego, choroby wrzodowej o etiologii *H. pylori*. Dobrze penetrują do narządów i tkanek; dobra penetracja do OUN antybiotyku podanego drogą doustną ma znaczenie w leczeniu zakażenia *Borrelia burgdorferi*. Dzielą się na związki o krótkim, wydłużonym i umiarkowanym okresie biologicznego półtrwania.

Tetracykliny przechodzą przez łożysko i odkładają się w zawiązkach zębów płodu, co powoduje późniejsze przebarwienia (żółto); wydalane są również z mlekiem matki. Powinny być bardzo ostrożnie stosowane u chorych z zaburzeniami czynności wątroby (zmniejszenie dawki z uwagi na hepatotoksyczność). Ryzyko uszkodzenia wątroby występuje szczególnie u pacjentów z niewydolnością nerek.

23. Makrolidy

Są to związki lipofilne, z centralnie ułożonym jądrem laktamowym, zawierającym 12 – 16 atomów węgla, prawie pozbawione wiązań podwójnych, nie zawierające atomów azotu (wyjątek: azalidy, dzięki czemu posiadają one rozszerzone działanie przeciwbakteryjne oraz lepsze parametry farmakokinetyczne). Mechanizm działania polega na blokowaniu syntezy białka na poziomie podjednostki 50S. Miejscem docelowym jest podjednostka 23S rybosomalnego RNA. Zmiana miejsca docelowego polega na jego metylacji, co prowadzi do krzyżowej oporności szczepów bakteryjnych na wcześniej opisywane antybiotyki.

Makrolidy dzielimy ze względu na ilość atomów węgla w pierścieniu laktonowym:

- C14 – erytromycyna, klarytomycyna,
- C15 – azytromycyna,
- C16 – spiramycyna

Spektrum przeciwbakteryjne:

- ziarenkowce G(+)/(-), tlenowe i beztlenowe,
- pałeczki G(-) tlenowe i beztlenowe,
- podłużne G(+) tlenowe i beztlenowe,
- bakterie spiralne G(-),
- Chlamydia, Mycoplasma, Toxoplasma gondii.

Najwyższe stężenie tych antybiotyków jest w mięszu płuca, w śluzówce i wydzielinie drzewa oskrzelowego, stąd znakomita skuteczność w leczeniu zakażeń dróg oddechowych. Również stosowane w: ZUM, krztuścu, kile, błonicy, trądziku, zakażeniach przewodu pokarmowego. Najszerzej stosowane obok β -laktamów. Obok działania przeciwbakteryjnego makrolidy wpływają modulująco na układ odpornościowy, blokują syntezę cytokin prozapalnych, zmniejszają produkcję śluzu. Nie powinny być stosowane w zapaleniu opon mózgowych.

24. Glikopeptydy

Są to związki wielcząsteczkowe, heterocykliczne, które ze względu na swoją wielkość źle penetrują do tkanek i narządów. Należą do najstarszych antybiotyków, do grupy bakteriobójczych, których podstawowym mechanizmem działania jest zaburzenie drugiego etapu syntezy peptydoglikanu ściany komórkowej. Antybiotyk glikopeptydowy tworzy kompleks z N-Ac-pentapeptydem, tj. prekursorem peptydoglikanu, przez utworzenie wiązań wodorowych z terminalnymi cząsteczkami pentapeptydu D-Ala-D-Ala. Jest to hamowanie innego etapu biosyntezy ściany komórkowej niż ma to miejsce w przypadku antybiotyków β -laktamowych, dlatego nie obserwuje się krzyżowej oporności pomiędzy oboma grupami leków.

Przedstawiciele: wankomycyna, teikoplanina.

Spektrum:

- ziarenkowce G(+), odporne na β -laktamy i u pacjentów z nadwrażliwością na β -laktamy,
- paciorkowce β -hemolizujące, penicylino-oporny *S. pneumoniae* / *Enterococcus*,
- gronkowce: *S. aureus*, *S. epidermidis* metycylino-oporny (MRSA, MRCNS).

Podawane dożylnie największe stężenie osiągają w płynie wysiękowym, opłucnowym, stawowym, osierdziowym, źle penetrują do OUN. Wydalane przez nerki, wysokie stężenie w moczu. Szczepy odporne pojawiają się najczęściej wśród szczepów klinicznych – *Enterococcus faecalis*, *S. epidermidis*, odporne zwłaszcza na teikoplaninę.

Wady: potencjalnie ototoksyczne i nefrotoksyczne, szybkie zaczerwienienie skóry na skutek szybkiego uwalniania histaminy.

25. Chinolony i fluoroquinolony

Fluoroquinolony w odróżnieniu od chinolonów mają w pozycji 9 atom fluoru, co wiąże się ze znacznym poszerzeniem spektrum i ulepszeniem właściwości farmakokinetycznych. Są to preparaty o działaniu bakteriobójczym, zaliczane są do grupy inhibitorów gyrazy DNA (bakteryjnej topoizomazy 2 i 4).

Zablokowanie aktywności gyrazy prowadzi do gromadzenia nadmiaru skrętów dodatnich i blokowaniu replikacji DNA (normalnie gyraza wprowadza ujemne skręty, rekompensując w ten sposób dodatnie – jest to niezbędne do prawidłowego funkcjonowania komórki).

Podzielone są na 4 generacje:

I generacja – chinolony – cinoxacyna

II generacja – fluoroquinolony – ciprofloksacyna – na tlenowe pałeczki G(-), bakterie atypowe i prątki

III generacja – polifluoroquinolony

IV generacja – naftyrydynochinolony, np. gemifloksacyna – na ziarenkowce G(+), w tym *S. pneumoniae* penicylinooporny

Spektrum: tlenowe G(+)/(-): Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, H. influenzae, N. meningitidis, Moraxella, Chlamydia, Mycoplasma, Legionella

Stosowane w terapii doustnej i perenteralnej; dobrze przenikają do tkanek i płynów ustrojowych, wnikają także do wnętrza fagocytów (patogeny wewnątrzkomórkowe). Fluorochinolony wykazują efekt poantybiotyczny.

Charakterystyczny jest dla nich długi okres pół trwania, dlatego mogą być aplikowane 1 – 2 x na dobę. Leczenie: ZUM powikłane i niepowikłane, zakażenia prostaty, dróg oddechowych, ucha zewnętrznego, atypowe zapalenie płuc, zakażenia szpiku.

Wady: podrażnienie przewodu pokarmowego oraz reakcja ze strony OUN, alergie, nadciśnienie lub tachykardia.

26. Sulfonamidy

Są to związki syntetyczne, blokujące wczesny etap syntezy kwasu foliowego u bakterii przez blokowanie kondensacji kwasu PABA z 2-hydropteroidyną. Mają działania bakteriostatyczne, działają tylko na namnażające się bakterie. Najszersze zastosowanie znalazł skojarzony preparat sulfametoksazol + trimetoprim =

kotrimoksazol (Biseptol). Spektrum działania:

- G(+) ziarenkowce: paciorkowce z wyjątkiem Enterococcus, S. pneumoniae, N. meningitidis, Actinomyces i Nocardia,
- pałeczki G(-): H. influenzae, Chlamydia, pierwotniaki.

Dobrze wchłaniają się z przewodu pokarmowego i penetrują do narządów i tkanek; w dużej części wydalane są z moczem i kałem. Wskazania kliniczne do stosowania kotrimoksazolu: ZUM, odmiedniczkowe zapalenie nerek i gruczołu krokowego, przewodu pokarmowego (SS), oddechowego, zakażenia gronkowcowe.

Reakcje niepożądane: depresja szpiku, gorączka alergiczna, zaburzenia żołądkowo-jelitowe, przejściowy wzrost enzymów wątrobowych.

27. Polipeptydy

- polimyksyny (np. kolistyna) – spektrum działania: G(-), działanie bakteriobójcze przez dezinergrujący wpływ na błonę komórkową i zmianę jej przepuszczalności, praktycznie nie obserwuje się nabytej oporności na kolistynę; źle penetruje do tkanek i narządów, nie przenika do PMR, przechodzi przez łożysko, w niewielkim stopniu przechodzi do mleka matki; stosowanie: zakażenia pokarmowe, ZUM, zakażenia przez szczepy wrażliwe; nefro- i neurotoksyczna
- gramicydyna – wytwarzana przez szczep Bacillus brevis, zbliżona do bacytracyny; aktywna na bakterie G(+) – pneumokoki, strepoki; stosowany w zakażeniach ropnych, ze względu na dużą toksyczność tylko miejscowo – preparaty do oczu i uszu, często jako składnik preparatów złożonych z neomycyną lub polimyksyną B
- bacytracyna – bakteriobójcza wobec G(+), nie działa na Pseudomonas aeruginosa i Enterobacteriaceae; mechanizm: hamuje syntezę ściany komórkowej przez zaburzenie odzysku nośnika sfosforylowanego lipidu; ze względu na toksyczność stosowana miejscowo, często jako maść w zakażeniach skóry i błon śluzowych gronkowcami i paciorkowcami, także w leczeniu rzekomobłoniastego zapalenia jelit, rzadko w gronkowcowym zapaleniu jelit
- fusafungina – substancja o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbakteryjnym, stosowana miejscowo w postaci aerozolu; ze względu na wielkość cząsteczki lek jest dostępny również w dystalnych odcinkach oskrzelików; nie wykazuje krzyżowej oporności; spektrum: S. pyogenes, S. pneumoniae, Enterococcus, S. aureus, MRSA, H. influenzae, M. catarrhalis, Mycoplasma, Legionella; działa miejscowo, nie jest wchłaniany z dróg oddechowych, jest dobrze tolerowany

28. Nitroimidazole

Prekursorem tej grupy był metronidazol. W komórce ulegają one redukcji, a zredukowane alkilują DNA.

Wykazują skuteczność przeciwko pasożytom: T. vaginalis, Giardia lamblia, E. histolytica oraz przeciwko bezwzględnie beztlenowcom (najbardziej aktywny preparat). Ponieważ nie działa na tlenowce, musi być kojarzony z innymi antybiotykami z leczeniu zakażeń mieszanych. Dobrze wchłania się z przewodu pokarmowego, penetruje do większości narządów i tkanek, w tym także do OUN. Metronidazol należy do podstawowych leków w leczeniu zakażeń OUN przebiegających z udziałem bakterii beztlenowych (ropień mózgu).

MECHANIZMY OPORNOŚCI BAKTERII NA ANTYBIOTYKI

29. Genetyczne podstawy oporności

Oporności drobnoustrojów na antybiotyki lub chemioterapeutyki może być determinowana informacją genetyczną zlokalizowaną w chromosomie lub w elementach ruchomych (plazmidy, transpozony, integrony). Dzieje się to na drodze mutacji lub bezpośredniego kontaktu komórek.

1. Oporność chromosomalna powstaje w wyniku mutacji lub nabycia genu oporności np. transformacji. Przykładem może być mutacja w genie gyrazy i powstanie oporności na chinolony. Mutacje mogą mieć charakter jednostopniowy lub kilku, np.:
 - a) *S. pneumoniae* oporny na β -laktamy lub na penicylinę (transformacja od *S. viridans*)
 - b) prątki gruźlicy odporne na ryfampicynę
 - c) *P. aeruginosa* na aminoglikozydy (zaburzenia bariery przepuszczalności)
 - d) *P. aeruginosa* i *S. aureus* na chinolony
2. Oporność plazmidowa. Plazmidy to dodatkowe ruchome fragmenty kulistego DNA, charakteryzują się pełną autonomią, nie mając bezpośredniego wpływu na czynności życiowe komórki. Odpowiadają za produkcję różnych białek, np. czynników zjadliwości lub oporności na antybiotyki. Mogą być przenoszone do komórek bakterii odrębnych taksonomicznie na zasadzie koniugacji, transdukcji i transformacji. Podobnie dzieje się z mniejszymi fragmentami materiału genetycznego jak transpozony i integrony. Te pierwsze mogą się przemieszczać z chromosomu na plazmid lub stanowić jego integralną część lub odwrotnie. Najmniejsze geny oporności to sekwencje insercyjne.
 - Koniugacja to proces wymiany materiału genetycznego między komórkami bakterii, biorą w tym udział fimbrie płciowe.
 - Transdukcja – wymiana materiału genetycznego w linii komórki bakteryjne – bakteriofag.
 - Transformacja – bezpośrednie unikatowe DNA z ulegającej lizie komórki dawcy do biorcy

30. Ekspresja fenotypowa oporności

Oporność na antybiotyki jest manifestowana przez bakterie przez:

1. Zaburzenia bariery przepuszczalności – zamknięcie kanałów porowych, przez który antybiotyk wnika do komórki; często dotyczy całej grupy antybiotyków (kanały OmpC i OmpF).
2. Modyfikacja miejsca docelowego wiązania antybiotyku, np. białka PBP u szczepów *Streptococcus pneumoniae* opornych na penicylinę (SPPR), syntetaza i reduktaza DHF, białka rybosomów, gyraza.
3. Synteza nowego PBP, które nie ma powinowactwa i nie wiąże antybiotyku, np. oporność na metycylinę.
4. Ominięcie ogniw szlaku metabolicznego zablokowanego przez chemioterapeutyk, np. sulfonamidy, glikopeptydy.
5. Aktywne usuwanie antybiotyku z komórki na zasadzie pompy, tzw. „active efflux”, np. oporność na chinolony (niskiego stopnia, związana z obecnością genów NOR) lub oporność na makrolidy (oporność w obrębie grupy).
6. Synteza enzymu rozkładającego antybiotyk, np. beta-laktamazy lub modyfikującego antybiotyk, np. acetylotransferazy, nukleotydtransferazy, fosfotransferazy – oporność na aminoglikozydy i chloramfenikol.

31. Pojęcia związane z opornością na antybiotyki

MRSA = metycylin-resistant *S. aureus*

Mechanizm oporności polega na syntezie nowego białka PBP o niskim powinowactwie do β -laktamów. Oporne na metycylinę szczepy *S. aureus* syntetyzują nowe białko PBP-2 lub -2a, którego syntezę determinuje gen *mecA* zintegrowany w chromosomie komórki bakteryjnej w określonym miejscu. Większość szczepów *S. aureus* opornych na metycylinę charakteryzuje się heterogennością – w obrębie populacji występują komórki o zróżnicowanym stopniu oporności. Obok genu *mecA* na stopień oporności na metycylinę wpływa obecność 5 innych genów. Szczepy *S. aureus* oporne na metycylinę wykazują krzyżową oporność ze wszystkimi antybiotykami β -laktamowymi, a często również z aminoglikozydami, chinolonami i makrolidami; są natomiast wrażliwe na antybiotyki glikopeptydowe. Najwięcej szczepów opornych stwierdza się na oddziałach intensywnej opieki medycznej, chirurgicznych, a także onkologicznych. Konieczność dużego zużycia antybiotyków glikopeptydowych pociąga za sobą ryzyko nabycia kolejnej oporności.

VRE = vancomycin-resistant Enterococci

GRE = glycopeptide-resistant Enterococci (wankomycyna, teikoplanina).

Oporność na glikopeptydy wśród klinicznych szczepów potencjalnie patogennych najczęściej rozwinęła się u ziarenkowców z rodzaju *Enterococcus*, zwłaszcza *E. faecium*, *S. epidermidis*, a ostatnio także wśród MRSA.

Inne ziarenkowce G(+) są naturalnie odporne na glikopeptydy. Pierwsze szczepy odporne na wankomycynę izolowano od pacjentów z oddziałów intensywnej opieki medycznej oraz hematologicznych. Geny oporności na glikopeptydy zlokalizowane mogą być na chromosomie lub na transpozonach. Za oporność enterokoków na glikopeptydy odpowiedzialne są geny: van A-E.

- van A charakteryzują się wysoką opornością na wankomycynę, teikoplaninę,
- van B – odporne na wankomycynę, wrażliwe na teikoplaninę,
- van C – konstytutywna oporność na niskie stężenia wankomycyny przy zachowanej wrażliwości na teikoplaninę,
- van D – umiarkowanie odporne na wankomycynę i wrażliwe lub nisko odporne na teikoplaninę,
- van E – odporne na wankomycynę i teikoplaninę.

VISA = Vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus

VRSA = Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus

VRSA to szczep *S. aureus* odporny na antybiotyk glikopeptydowy – wankomycynę. Wraz ze wzrostem oporności gronkowców na metycylinę, wankomycyna (lub teikoplanina) jest często lekiem z wyboru w infekcjach z udziałem szczepów MRSA. Oporność na wankomycynę jest wciąż rzadkim zjawiskiem. Niestety VRSA mogą być również odporne na meropenem i imipenem – dwa inne antybiotyki używane przeciwko wrażliwym szczepom gronkowców. VISA (*S. aureus* częściowo odporny na wankomycynę) został zidentyfikowany w Japonii w 1997 r. i od tego czasu znaleziono go w Anglii, Francji, USA, Azji i Brazylii. Funkcjonuje również termin GISA (glycopeptide-intermediate Staphylococcus aureus) na opisanie oporności gronkowców wobec wszystkich antybiotyków glikopeptydowych. Omawiane szczepy bakterii posiadają cieńszą ścianę komórkową, przez co mniejsza ilość antybiotyku zdolnego zabić bakterię kontaktuje się z jej powierzchnią. Na szerszą skalę prowadzi to do oporności na wysokie stężenia wankomycyny u *S. aureus*. Obecnie istnieje ryzyko szybkiego rozprzestrzeniania się takiej oporności za pośrednictwem szczepów szpitalnych, bowiem tradycyjna VISA nabywana była przez szczep jedynie w wyniku bezpośredniego leczenia wankomycyną. Nawet jeśli nie dojdzie do rozwoju oporności na wysokie stężenia wankomycyny, VISA zwiększa trudności przy planowaniu leczenia, szczególnie w sytuacjach nagłej potrzeby zastosowania skutecznej terapii empirycznej, w czasie oczekiwania na wynik antybiogramu. W szpitalach, gdzie obecnie występują wielooporne szczepy MRSA, dodatkowe pojawienie się VRSA niezwykle utrudniłoby leczenie. Obecnie oporność na wysokie stężenia zarówno glikopeptydów, jak i β -laktamów u *S. aureus* wydaje się wykluczać, tak iż oba rodzaje oporności nie występują jednocześnie u tego samego szczepu. Jednakże nie jest to spowodowane niekompatybilnością biologiczną, więc teoretycznie – biorąc pod uwagę selektywność środowiska – mogą wyewoluować super-szczepy odporne na wysokie stężenia oby klas substancji leczniczych.

HLAR = high concentration aminoglycoside resistance

Oporność bakterii na antybiotyki aminoglikozydowe polega przede wszystkim na enzymatycznej modyfikacji leków, na zmianie budowy receptora komórkowego, a także na zaburzeniach przepuszczalności i transportu antybiotyku do wnętrza komórki. Zdolność syntezy enzymów modyfikujących antybiotyk determinowana jest konformacją zawartą w genomie plazmidu, transpozonu lub rzadziej chromosomu. Enzymy modyfikujące antybiotyki aminoglikozydowe można zaszeregować do 3 klas:

- ADD – nukleotydotransferazy (nuklotydacja, np. adenylacja grup hydroksylowych),
- APH – fosfotransferazy (fosforylacja grup hydroksylowych),
- AAC – acetylotransferazy (acetylacja grup aminowych)

Innym mechanizmem oporności na aminoglikozydy, występującym zwłaszcza u G(-) pałeczek oraz ziarniaków z gatunku *E. faecalis* są zaburzenia energozależnego systemu transportu antybiotyku do receptora komórkowego (podjednostka 30S rybosomu), w wyniku czego antybiotyk nie osiąga docelowego miejsca działania. Trzeci mechanizm oporności, polegający na mutacji chromosomalnej, prowadzi do zmiany białka S12 podjednostki 30S rybosomu i utraty zdolności wiązania antybiotyku. Ten mechanizm jest odpowiedzialny za wysoki poziom oporności na streptomycynę. Najczęstszy mechanizm oporności związany jest z syntezą enzymów modyfikujących, a jedna komórka bakteryjna tego samego gatunku może wytwarzać od jednego do kilku różnych enzymów. Zjawiskiem doskonale poznanym jest oporność gronkowców na aminoglikozydy. Zidentyfikowano 9 genów odpowiedzialnych za to zjawisko. Najbardziej charakterystycznym z enzymów modyfikujących aminoglikozydy jest enzym dwufunkcyjny AAC(6['])/APH(2[']), występujący u *S. aureus* i *E. faecalis*.

ESBL = extended-spectrum beta-lactamases

Mutacje punktowe w genach odpowiedzialnych ze syntezę enzymów klasycznych doprowadziły do powstania enzymów o rozszerzonym profilu substratowym (ESBL), które rozkładają również antybiotyki odporne na enzymy klasyczne, tj. II i III, a niektóre także IV generację cefalosporyn. Mają zdolność do hydrolizy wielu antybiotyków β -laktamowych:

- penicylin,

- cefalosporyn I-III z wyjątkiem cefamycyn,
- monobaktamów.

Nie hydrolizują karbapenemów, są częściowo wrażliwe na ich inhibitory (nie do końca – już pojawiły się szczepy posiadające metalo- β -laktamazy cynkowo-zależne = MBL, produkujące karbapenemazy).

32. Metody oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki

Antybiogram – wynik oznaczenia wrażliwości szczepu bakteryjnego (czynnika etiologicznego zakażenia) na określony zestaw antybiotyków. Celem jest wybór leku do celowanej antybiotykoterapii.

- metody jakościowe – dyfuzyjne – różne techniki, różne krążki, różna zawartość leków w krążkach
Metoda krążkowa Kürby – Bauera – średnica strefy zahamowania wzrostu określa wrażliwość lub oporność szczepu na lek. Wartości graniczne wyznaczone w oparciu o wartości MIC dla szczepów wzorcowych.
Metoda standaryzowana i kontrolowana przez NCCLS w USA.
- metody ilościowe – wyznaczają stężenie leku hamujące wzrost bakterii (w mg / l) → wartości te są porównywane ze standardami
 - MIC = minimal inhibitory concentration – minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii wyznaczone przez wykonanie seryjnych rozcieńczeń antybiotyku w podłożu wzrostowym
 - E-testy – paski nasączone antybiotykiem według gradientu stężeń (→ „gruszki”)
 - API 10 M studzienki (dołki) z kolejnymi rozcieńczeniami leku
 - Mast MIC – zestaw krążków z seryjnymi rozcieńczeniami leku
 - MBC = minimal bactericidal concentration – minimalne stężenie bakteriobójcze wyznaczana na bazie MIC po przeniesieniu badanego szczepu do podłoża wzrostowego bez antybiotyku
- metody półautomatyczne i automatyczne – najczęściej z zastosowaniem dwóch granicznych stężeń leku:
 - ATB PSE, ATB E, ATB Staph. itd.
 - karty z zestawami antybiotyków do analizatorów, np. Sceptor, VITEK,
 - IST Mycoplasma test

STERYLIZACJA I DEZYNFEKCJA

33. Pojęcia

- Dekontaminacja jest procesem prowadzącym do usunięcia lub zniszczenia drobnoustrojów. Do metod dekontaminacji należą: sanityzacja, dezynfekcja i sterylizacja.
- Sanityzacja to usuwanie widocznych zabrudzeń i zanieczyszczeń a wraz z nimi także większości drobnoustrojów (mycie, odkurzanie, malowanie).
- Dezynfekcja: proces, w wyniku którego ulegają zniszczeniu formy wegetatywne drobnoustrojów (pozostają spory bakteryjne i tzw. „powolne” wirusy).
- Dezynfekcja wysokiego stopnia oprócz form wegetatywnych niszczy także prątki gruźlicy, enterowirusy i niektóre formy przetrwalnikowe.
- Antyseptyka: dezynfekcja skóry, błon śluzowych, uszkodzonych tkanek z zastosowaniem preparatów nie działających szkodliwie na tkanki ludzkie.
- Sterylizacja: proces prowadzący do zniszczenia wszystkich żywych form drobnoustrojów.
- Aseptyka: sposób postępowania, którego celem jest zapobieganie zakażeniom tkanek i skażeniom jałowych powierzchni.

34. Metody sterylizacji i dezynfekcji

Dezynfekcja

- Dezynfekcja termiczna przebiega z wykorzystaniem wody o temp. 93⁰ C lub pary wodnej o temp. 105-110⁰ C i nadciśnieniu 0.5 atmosfery (bielizny, naczyń, wyposażenia sanitarnego). Szczególnym przypadkiem jest pasteryzacja polegająca na jednorazowym krótkotrwałym podgrzaniu cieczy do temperatury < 100⁰ C (60-80⁰ C) i natychmiastowym oziębieniu do temp. pokojowej.
- Dezynfekcja chemiczno-termiczna jest połączeniem działania środków chemicznych oraz ciepła (60⁰ C).
- Dezynfekcja chemiczna to dezynfekcja przy użyciu roztworów preparatów: na bazie chloru, związki nadtlenowe, czwartorzędowe związki amoniowe, alkohole, aldehydy i pochodne fenolu.

Związki chemiczne wykorzystywane w dezynfekcji

- Związki powierzchniowo czynne niszczą błonę lipidową zaburzając uporządkowanie białek i lipidów tworzących błonę
- Związki kationowe. Czwartorzędowe związki amoniowe – zwiększają przepuszczalność błony komórkowej. (Sterinol) i (Halset).
- Związki anionowe. Mydła, kwasy tłuszczowe łączą się z lipidami błony komórkowej powodując jej przerwanie. Skuteczna zwłaszcza przeciwko G(+) bakteriom. (Duponol).
- Związki niejonowe. Są to rozpuszczalniki organiczne przerywające błonę lipidową. Związki fenolowe (Lizol) (słaba aktywność przeciwwirusowa, toksyczność). Heksachlorofen aktywny wobec gronkowców, toksyczny dla komórek układu nerwowego. Alkohole (metanol, etanol, izopropanol) są stosowane głównie w antyseptyce.
- Związki denaturujące białko
- Kwasy i zasady zaburzają trzeciorzędową strukturę białek.
- Metale ciężkie (rtęć, srebro arsen) wiążą się z grupami sulfhydrołowymi białek. Reakcja ta jest podstawą inaktywacji enzymów.
- Związki utleniające oddziałują na białka i kwasy nukleinowe. Nadtlenek wodoru (3% – woda utleniona). Preparaty zawierające aktywny chlor (chloramina, podchloryn sodu, podchloryn wapnia). Preparaty nadtlenowe.
- Związki alkilujące: aldehydy (glutarowy, mrówkowy) spektrum działania: bakterie (w tym prątki gruźlicy), wirusy, grzyby oraz formy przetrwalnikowe drobnoustrojów.
- Do metod dezynfekcji można zaliczyć także promieniowanie UV stosowane do eliminacji drobnoustrojów obecnych w powietrzu i na powierzchniach. Promieniowanie UV nie penetruje w głąb ciał stałych i cieczy.
- Szczególną metodą jest filtracja. Znane są filtry z ziemi okrzemkowej, porcelanowe, z azbestu włóknistego, ze spiekane szkła oraz membranowe. Zatrzymują one bakterie i grzyby, a filtry membranowe – także wirusy.

Kontrola skuteczności chemicznych środków dezynfekcyjnych jest możliwa pośrednio, na podstawie jakościowych i ilościowych badań mikrobiologicznej czystości powierzchni.

Sterylizacja

Rodzaje sterylizacji

- sterylizacja wysokotemperaturowa
- bieżąca para wodna
- para wodna w nadciśnieniu
- suche gorące powietrze
- promieniowanie podczerwone
- sterylizacja niskotemperaturowa
- tlenek etylenu
- promieniowanie jonizujące
- formaldehyd
- plazma gazu

Do sterylizacji niskotemperaturowej, chemicznej zaliczana jest także sterylizacja kwasem nadoctowym, nadtlenkiem wodoru i ozonem.

Sterylizacja wysokotemperaturowa

- Sterylizacja bieżącą parą wodną (tyndalizacja) przeprowadzana jest w aparatach Kocha lub Arnolda. Trzykrotne działanie pary wodnej przez 20-30 minut w odstępach 24-godzinnych. Metoda ta niszczy formy wegetatywne drobnoustrojów. Formy przetrwalnikowe przechodzą w formy wegetatywne niszczone w kolejnym cyklu podgrzania.
- Sterylizacja parą wodną w nadciśnieniu przebiega z wykorzystaniem nasyconej pary wodnej w nadciśnieniu 1atm. (temp. 121⁰C, czas: 15 min.) lub 2 atm. (temp. 132⁰C, czas: 5 min) w autoklawach przepływowych. Para wodna ma dobre właściwości penetrujące, w krótkim czasie niszczy drobnoustroje powodując koagulację białek i nie jest toksyczna dla środowiska jest stosowana do sterylizacji narzędzi, sprzętu, bielizny, rękawic itp.
- Sterylizacja suchym gorącym powietrzem przeprowadzana jest w dwóch rodzajach aparatów: aparatach z wymuszonym obiegiem powietrza (temp. 160⁰C, czas: 60 min. lub temp. 180⁰C, czas: 15 min.) i aparatach z naturalnym obiegiem powietrza (temp. 160⁰C, czas: 120 min. lub temp. 180⁰C, czas: 30 min.). Wycofywana metoda.
- Promieniowanie podczerwone (niejonizujące, nieprzenikliwe) (igły, strzykawki). Sterylizowanie-promieniowanie przez 10 min. (temp. procesu: 190⁰C).

Sterylizacja niskotemperaturowa

Sterylizacja niskotemperaturowa umożliwia wyjaławianie materiałów wrażliwych na temperaturę i wilgoć.

- Metody podstawowe: tlenek etylenu, formaldehyd, plazma, kwas nadoctowy
- Rzadziej: nadtlenek wodoru, ozon
- Metoda przemysłowa: promieniowanie jonizujące
- Sterylizacja tlenkiem etylenu
Tlenek etylenu (TE) niszczy drobnoustroje w wyniku alkilacji białek, DNA i RNA. technologie: stężenie TE 300-1200 mg / l; wilgotność 30-90%; temperatura 30-65⁰ C; czas 2-7 godzin (zwykle 2-4).
Sterylizacja tlenkiem etylenu przebiega z wykorzystaniem czystego TE (100%) lub w mieszaninie TE z hydroksyfreonem (9%) oraz dwutlenkiem węgla (8.5%). Sterylizacja w 100% TE przebiega w podciśnieniu co ogranicza możliwość uwalniania gazu do środowiska w przypadku nieszczelności systemu. Najnowszą technologią jest sterylizacja w 100% tlenku etylenu, w której kolejne etapy to:
 - wytworzenie podciśnienia w komorze, ogrzewanie do 37⁰ C lub 55⁰ C,
 - nawilżanie parą wodną, ekspozycja w podciśnieniu na 100% tlenku etylenu,
 - opróżnienie komory z tlenku, wypełnienie sterylnym powietrzem,
 - degazacja wstępna 0,5 - 3 godzin, dalsza: 12 godzin w 50⁰ C lub 7 dni w temperaturze pokojowej.
- Sterylizacja formaldehydem
Sterylizacja przebiega przy współdziałaniu formaldehydu oraz pary wodnej o niskiej temperaturze w zmiennym ciśnieniu (wielokrotne pulsacje pary i formaldehydu) zwykle w następujących warunkach: stężenie formaldehydu 2-5%; wilgotność >70%; temperatura 48⁰ C - 75⁰ C; czas 2-4 godziny.
Formaldehyd nie może być wykorzystywany do sterylizacji przedmiotów o długości powyżej 1,5 m i średnicy mniejszej niż 2 mm.
- Sterylizacja plazmowa – Plazma jest zjonizowanym gazem wytwarzanym w warunkach próżni pod wpływem pola elektromagnetycznego. Niszczy ona drobnoustroje uszkodzając ich DNA, RNA, enzymy, fosfolipidy. Parametry procesu sterylizacji plazmowej: stężenie nadtlenu wodoru 50-55%; temperatura 40 – 60⁰ C; czas 45-75 minut. Produkt końcowy sterylizacji to tlen i woda.
- Sterylizacja kwasem nadoctowym to sterylizacja mieszaniną kwasu nadoctowego, octowego i nadtlenu wodoru. Działanie bakteriobójcze oparte jest na utlenianiu białek. Roztwory kwasu nadoctowego stosowane są do tzw. dezynfekcji wysokiego stopnia. Sterylizacja parami kwasu octowego odbywa się w sterylizatorach podobnych do plazmowych a proces ten przebiega zwykle w temperaturze 50-55⁰ C przez 30 minut. Wadą tego typu sterylizacji jest niska penetracja, wysoka reaktywność i toksyczność czynnika sterylicującego.
- Sterylizacja nadtlakiem wodoru oparta na utlenianiu (oksydacji) białek przebiega w temp. 40-60⁰ C i w czasie 90 min. Produktem końcowym procesu jest tlen i woda.
- Sterylizacja ozonem wytwarzanym z tlenu pod wpływem wyładowań elektrycznych przebiega w czasie 30-120 min. w temp. 25⁰ C i wilgotności 75-95 %. Produktem końcowym procesu jest tlen.
- Sterylizacja radiacyjna – Źródłem promieniowania jonizującego są akceleratory elektronów (10%) lub izotopy promieniotwórcze (90%), głównie Co-60, rzadziej Cs-137. Promieniowanie radiacyjne nieodwracalnie uszkodza błony komórkowe i zakłóca replikację drobnoustrojów w wyniku podwójnego pęknięcia nici DNA.

35. Kontrola procesów sterylicacji

Kontrola procesów sterylicacji obejmuje kontrolę sprzętu, wsadu, pakietu i ekspozycji.

- Kontrola sprzętu oparta jest na odczycie wskazań zegarów, termometrów i manometrów mierzących punktowo dany parametr (wskaźniki fizyczne).
- Kontrola wsadu (tzw. biologiczna kontrola procesu sterylicacji) prowadzona jest w oparciu o wskaźniki biologiczne. Są to umieszczone na nośniku (krążek lub pasek bibuły) przetrwalniki wyselekcjonowanych szczepów bakterii *B. subtilis* lub *B. stearothermophilus* wysoce opornych na dany czynnik sterylicujący. Należy umieścić nie mniej niż dwa wskaźniki wewnątrz dwóch wybranych pakietów a te z kolei należy ułożyć w dwóch różnych miejscach komory sterylizatora. Po ekspozycji (zakończeniu procesu sterylicacji) przetrwalniki przenoszone są do podłoża hodowlanego. Po inkubacji odpowiednio w 37⁰ C (*B. subtilis*) lub w 56⁰ C (*B. stearothermophilus*) – brak w podłożu hodowlanym jest dowodem na skuteczność procesu sterylicacji.
 - Sporal S: spory *B. subtilis* – kontrola sterylicacji suchym gorącym powietrzem, tlenkiem etylenu; wynik po 7 dniach
 - Sporal A: spory *B. stearothermophilus* – kontrola sterylicacji parą wodną w nadciśnieniu; wynik po 7 dniach
 - 3M Attest: spory bakteryjne + pożywka – kontrola sterylicacji parą wodną w nadciśnieniu kontrola

sterylizacji tlenkiem etylenu; wynik po 24-48 godzinach

- Kontrola pakietu jest kontrolą chemiczną, którą można przeprowadzić przy użyciu wskaźników wieloparametrowych monitorujących zwykle czas i temperaturę sterylizacji oraz wskaźników integrujących monitorujących wszystkie parametry procesu a substancja wskaźnikowa przesuwa się w określonym polu wskaźnika.
- Kontrola ekspozycji jest kontrolą chemiczną prowadzoną dla każdego pakietu przy użyciu samoprzylepnych taśm, pasków, groszków. Zmiana barwy nadruku umożliwia wizualną ocenę, czy dany pakiet był poddany sterylizacji.

36. Kontrola jałowości leków

Kontrola ta skupia się głównie przy:

- kontroli jałowości płynów infuzyjnych (sól fizjologiczna, glukoza, PWE, albuminy, preparaty krwiopochodne),
- kontroli jałowości kropli do oczu,
- kontroli jałowości materiałów włóknistych
- oznaczaniu działania środków konserwujących

MIKROBIOLOGIA SZCZEGÓŁOWA

G(+) ZIARNIAKI – GRONKOWCE

37. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus – gronkowiec złocisty, jest odpowiedzialny za wywoływanie większości zakażeń gronkowcowych u ludzi.

- a) Bakteria katalazo(+), koagulazo(+). Preferuje warunki tlenowe ale mogą być względnie beztlenowe. Jest wrażliwy na nowobiocynę oraz bacytracynę.
Zawiera otoczkę, hamującą chemotaksję i fagocytozę, ułatwiająca przyleganie bakterii do powierzchni ciał obcych, peptydoglikan; stymulujący produkcję endogennych pirogenów, związanych z białkiem A oraz kwas rybitolowy (teichowy) w ścianie komórkowej.
- b) Powoduje szpitalne oraz pozaszpitalne zakażenia oportunistyczne:
 - ropne stany zapalne skóry i tkanek miękkich (czyraki, jęczmień, liszajec, ropnie, ropowice, zapalenia szpiku kostnego, septyczne zapalenie stawów, zapalenie wsierdzia, zapalenie płuc)
 - zatrucia pokarmowe
 - TSS (zespół wstrząsu toksycznego)
 - SSS (scaled skin syndrome – zapalenie złuszczone skóry)
 - TEN (toxic epidermal necrosis)
- c) czynniki chorobotwórczości:
 - egzotoksyny:
 - Egzotoksyny pirogenne – reagują zarówno z cząsteczkami MHC-II na makrofagach, jak i swoistymi typami zmiennych regionów łańcucha B receptorów limfocytów T. Reakcja ta nie jest antygenowo swoista dlatego antygeny te są często przedstawiane jako superantygeny.
 - Enterotoksyny gronkowcowe stanowią grupę ciepłostajnych białek, które dzielą się na 7 typów: A (najlepiej poznana), B, C1, C2, D, E i F. Typy A i B enterotoksyn są najczęściej odpowiedzialne za zatrucia pokarmowe u ludzi, charakteryzujące się klinicznie nudnościami, wymiotami, biegunką i czasami zapaścią naczyniową. Objawy te występują w ciągu 2-6 h po spożyciu zanieczyszczonego pokarmu.
 - TSST1 jest pirogeną egzotoksyną, powoduje gorączkę, niewydolność wielonarządową oraz wstrząs.
 - eksfoliatyna toksyna złuszczonej lub epidermolityczna – jej działanie jest ograniczone do warstwy ziarnistej skóry, powoduje powstawanie pęcherzy i złuszczenie się naskórka
 - leukocydyny są toksynami, które mają bezpośrednie działanie toksyczne na neutrofile i makrofagi
 - agresyny, inwazyjny, białka wiążące ECM – fibronektyny,
 - leukocydyna – niszczy wielojądrzaste leukocyty i makrofagi,
 - hemolizyny α , β , γ , δ a jest odpowiedzialna za strefę hemolizy wokół kolonu *S. aureus*, wzrastających na podłożu agarowym z krwią barania
 - koagulaza może chronić komórki bakteryjne przed fagocytozą przez opłaszczanie neutrofilów fibryną
 - białko A, składnik ściany komórkowej, jest zdolne do wiązania regionu Fc IgG i może zapobiegać opsonizacji i fagocytozie, uniemożliwiając przyłączenie swoistych przeciwciał do komórek gronkowców, działa chemotaktycznie na leukocyty
 - hialuronidazy są enzymami, które hydrolizują międzykomórkowy cement tkanek, jaki stanowi kwas hialuronowy; bakterie mogą się rozprzestrzeniać w głąb organizmu
 - lipazy zdolne do hydrolizowania lipidów w skórze, co ułatwia ich rozprzestrzenianie
 - stafilokinaza (fibrynolizyna) powoduje przekształcenie plazminogenu do plazminy
 - „clumping factor” – czynnik CF (znany jako „koagulaza związana”) – ściąga fibrynogen bez udziału aktywatora koagulazy. Uczestniczy w osłonie gronkowców przed leukocytami i przeciwbakteryjnymi czynnikami zawartymi w surowicy.
Do czynników zjadliwości u szczepów z gatunku *S. aureus* należą ponadto: glikokaliks polisacharydowy, białko wiążące fibronektynę, białko wiążące kolagen i białko wiążące fibrynogen.
 - d) epidemiologia – kolonizuje skórę i błony śluzowe około 30 % zdrowych ludzi (najczęściej nozdrza przednie), głównie przenosi się z człowieka na człowieka
 - e) Większość szczepów jest opornych na penicylinę G. Leczenie należy rozpocząć od podania penicylinazooopornych penicylin lub cefalosporyn I generacji. Wankomycyna na metycylino-oporne gronkowce, dla uczulonych – cefalosporyny, erytromycyna, klindamycyna.
 - f) MRSA i inne opisane przy antybiotykach.

38. *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus*

Staphylococcus epidermidis

Należy do grupy gronkowców koagulazo(-) (CNS). Jest stałym elementem flory fizjologicznej skóry. Jest jedną z przyczyn zakażeń szpitalnych, u osób z obniżoną odpornością (białaczki, nowotwory, naświetlania, przeszczepy). Zakażenia CNS są związane z wprowadzaniem do organizmu ciał obcych takich jak cewniki naczyniowe, endoprotezy, zastawki. Zakażenia mogą występować po zabiegach chirurgicznych. Wykrywany jest często przy zapaleniach kości i szpiku, zakażeniach dróg moczowych, i zapaleniach otrzewnej, po częstych dializach otrzewnowych.

Najistotniejszym czynnikiem gronkowca skórnoego jest zdolność wytwarzania zewnątrzkomórkowego śluzu (ESS), który ułatwia przyleganie do powierzchni sztucznych tworzyw używanych do konstrukcji protez lub cewników. Wytwarzany śluz utrudnia dostęp do komórek bakteryjnych komórkom fagocytarnych, przeciwciałom oponizującym oraz antybiotekom. Do innych istotnych czynników zjadliwości należy zdolność syntezy hemolizyny a i b, lipazy, esterazy oraz proteazy. Po skolonizowaniu powierzchni skóry przez CNS techniki aseptyczne są mało skuteczne (nie do usunięcia).

Antybiotyki: jak u *S. aureus*. Mniejsza wrażliwość na cefalosporyny III gen. i karbapenemy. W środowisku szpitalnym występują szczepy odporne na metycylinę MRSA, które często zachowują aktywność wrażliwość na glikopeptydy i kwas fusydowy.

Staphylococcus saprophyticus

Należy do grupy gronkowców koagulazo(-) (CNS). Jest drobnoustrojem oportunistycznym, wchodzi w skład naturalnej flory człowieka. Oporny na nowobiocynę ze zróżnicowaną opornością na bacytracynę. Powoduje pierwotne zakażenie dróg moczowych u młodych kobiet, drugi co do częstości po *E. coli* (pływanie, sex).

G(+) ZIARNIAKI – PACIORKOWCE

39. *Streptococcus pyogenes*

- a) Jest β -hemolizującym paciorkowcem, grupy A. Należy do bakterii G(+), katalazo(-). Kolonizuje drogi oddechowe, przewodzie pokarmowym, odbycie, pochwie (nosicielstwo). Nosicielstwo wynosi 15-20% (najwyższe pomiędzy 5-10 rokiem życia).
- b) czynniki zjadliwości:
 - Głównym czynnikiem zjadliwości tego drobnoustroju jest zewnątrzkomórkowa otoczka, zwana białkiem M. Ma ono właściwości antyfagocytarne i antykomplementarne. Działa również cytotoksycznie na neutrofile, jest silnie immunogenna.
 - Białko F (białko wiążące fibronektynę) jest czynnikiem adhezyjnym, razem z białkiem E pozwala paciorkowcom z grupy A wiążąc się z nabłonkiem gardła.
 - Białko G – wiąże IgG przez region Fc i może powstrzymywać wiązanie przeciwciał.
 - Otoczka hialuronowa nie jest immunogenna.
 - Wielocukier C i antygeny błony cytoplazmatycznej zawiera cząsteczki podobne do ludzkich antygenów tkankowych (serca, nerek, stawów), dlatego odpowiedź immunologiczna przeciwko paciorkowcom gr. A może spowodować autoagresję i przyczynić się do rozwoju zapalenia wsierdza, kłębuszkowego zapalenia nerek i zapalenia stawów.
 - Egzotoksyny:
 - toksyna erytrogena – wytwarzana tylko przez szczepy lizogenne, działa bezpośrednio na podwzgórze wywołując działanie pirogenne (wysypka charakterystyczna dla płonicy),
 - egzotoksyna A – podobna do w / w i prawdopodobnie do TSST-1, odpowiada za objawy ogólne zakażenia paciorkowcami gr. A,
 - egzotoksyna B – proteaza cysteinowa, odpowiedzialna za niszczenie tkanek u pacjentów z martwiczym zapaleniem powięzi,
 - egzotoksyna sercowo – wątrobowa – uszkadza serce i wątrobę
 - hemolizyny:
 - streptolizyna O – wrażliwa na tlen, silnie immunogenna, odpowiada za całkowitą hemolizę
 - streptolizyna S – nie wrażliwa na tlen, nie ma właściwości immunogennych, działanie hemolityczne i cytotoksyczne
 - czynniki rozprzestrzeniania – pomagają wtargnąć do tkanek przez rozpuszczanie skrzepów i niszczenie tkanki łącznej
 - hialuronidaza
 - proteinaza

- streptokinaza
- nukleaza
- c) zakażenia pierwotne: ostre zapalenie gardła, angina, ropne zapalenie skóry, liszajec, róża, cellulitis, gorączka płożowa, martwicze zapalenie powięzi, zapalenie ucha środkowego, zatok, wyrostka sutkowego, płuc, płonica, paciorkowcowy zespół wstrząsu toksycznego
- d) Nieropne następstwa: występujące po pierwotnym zakażeniu paciorkowcami gr. A, są następstwem reakcji krzyżowej autoprzeciwciał
 - gorączka reumatyczna – następstwo paciorkowcowego zakażenia gardła charakteryzujące się zapaleniem serca, zapaleniem stawów, oraz objawami neurologicznymi takimi jak płasawica. Występuje przeważnie u dzieci i młodzieży. Leczenie obejmuje podanie NLPZ np. aspiryny. W przypadku nawrotowych zapaleń powinna być utrzymywana supersja penicylinowa.
 - ostre paciorkowcowe zapalenie nerek, jest następstwem zakażeń skóry lub gardła, charakteryzuje się obrzękiem twarzy, nadciśnieniem tętniczym oraz ciemnym moczem
 - rumień guzowaty – charakteryzuje się małymi czerwonymi guzkami pod powierzchnią skóry
- e) leczenie: penicylina z klindamycyną. Klindamycyna jako inhibitor syntezy białka powoduje zahamowanie wytwarzania toksyny.

40. Streptococcus pneumoniae

- a) Jest α -hemolizującym paciorkowcem. Należy do bakterii G(+), katalazo(-), wrażliwych na optochinę oraz rozpuszczalna w żółci. Jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń dróg oddechowych, ponadto może wywoływać zapalenia ucha środkowego, zatok obocznych nosa, opon mózgowo-rdzeniowych. Rzadziej wywołuje posocznice i zapalenie stawów. Zakażenie szerzy się drogą kropelkowa i sprzyja mu częste przebywanie w zatłoczonych pomieszczeniach. Do zakażeń predysponują takie czynniki jak: osłabienie odpowiedzi immunologicznej, immunosupresja powirusowa, utrata czynności śledziony, w wyniku jej usunięcia, niedokrwistości sierpowatej, aspleni.
- b) Główny czynnik zjadliwości stanowi antyfagocytarna otoczka polisacharydowa. Zawierają ją kolonie gładkie i tylko one są patogenne. Szczepy gładkie mogą wraz z DNA przekazywać zdolność do wytwarzania otoczki szczepom szorstkim, jest to charakterystyczny przykład transformacji, Różnice antygenowe wynikające ze składu chemicznego polisacharydów otoczkowych pozwalają na identyfikację 83 serotypów.
Innymi czynnikami zjadliwości są: hemolizyna, hialuronidaza i neuraminidaza oraz proteaza IgA (inaktywująca na powierzchni błon śluzowych).
- c) W profilaktyce stosuje się szczepionki ochronne, które zawierają 23 serotypy w każdej. W pewnych grupach społecznych szczepienia są wskazane (np. cukrzycy, immunosupresanci).
- d) W ostatnich latach obserwuje się szybko narastającą oporność *S. pneumoniae* na penicylinę. Jest to konsekwencja obecności genów odpowiedzialnych za syntezę białek wiążących penicylinę mających do niej zmienione powinowactwo.

Wyróżniamy:

SPPS – w pełni wrażliwy

SPPI – umiarkowany stopień oporności

SPPR – wysoki stopień oporności

III generacja cefalosporyn we wstępnym leczeniu poważnych zakażeń pneumokokowych.

W przypadku szczepów wysokoopornych wankomycyna.

41. Streptococcus orale

- paciorkowce zieleniejące = paciorkowce z grupy orale
- Paciorkowce zieleniejące są α -hemolizujące i występują w nosogardzieli u zdrowych ludzi.
- Przedstawiciele: *S. salivarius*, *S. mitans*, *S. mutans*, *S. sanguis*.
- Ogólna charakterystyka:
Bakterie te należą do mikroaerofilnych, a do swego wzrostu wymagają podłoży wzbogaconych w białko. Nie mają grupowo swoistych antygenów ściany komórkowej, dlatego nie mogą być klasyfikowane na podstawie podziału Lancefield.
- Objawy kliniczne:
Paciorkowce zieleniejące są czynnikiem etiologicznym próchnicy zębów i podostrego zapalenia wsierdzia, które jest często następstwem zabiegów stomatologicznych. Przejściowa bakteremia towarzysząca zabiegom w jamie ustnej tworzy warunki do kolonizacji zastawek serca (szczególnie już uszkodzonych lub z wadą). Dlatego pacjenci z gorączką reumatyczną lub wrodzoną chorobą serca są szczególnie narażeni na podostre bakteryjne zapalenie wsierdzia.

42. Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae jest paciorkowcem β -hemolizującym z grupy B.

- a) Jest składnikiem flory fizjologicznej jamy ustnej, nosogardzieli przewodu pokarmowego i pochwy, jest podstawowym czynnikiem etiologicznym zakażeń w okresie noworodkowym, a jego nosicielstwo w pochwie zdrowych kobiet sięga 50-75%. Zajmują drugą pozycję po koagulazo(-) gronkowcach w etiologii bakteremii i posocznicy noworodkowej. Zakażenia charakteryzują się poważnym przebiegiem klinicznym i wysoką śmiertelnością. Najczęstszym sposobem zakażenia noworodka jest zakażenie podczas porodu, lub zakażenie drogą wstępującą wskutek pęknięcia pęcherza płodowego. Zakażenie manifestuje się zespołem ostrej niewydolności oddechowej w wyniku zapalenia płuc oraz posocznicy.
- b) Głównym czynnikiem zjadliwości jest otoczka wielocukrowa, inne czynniki to hemolizyny i neuraminidaza. Antygeny otoczkowe paciorkowca z grupy B są obecne we wszystkich płynach ustrojowych.
- c) Profilaktycznie przed porodem podaje się ciężarnej ampicyliny dożylnie, później doustnie, w razie uczulenia erytromycyna. Przenoszenie odbywa się głównie przez zaniedbany personel szpitalny. Jako zakażenie poporodowe u kobiet może wywoływać zakażenia macicy. Zapalenie płuc, ropniaki, ZUM występują rzadziej. Lekami z wyboru są penicyliny (u noworodków), które w zapaleniu opon należy dołączyć do antybiotyków o szerszym spektrum.

43. Paciorkowce kałowe

Bakterie Enterococcus faecalis czyli paciorkowce kałowe należą do ziarniaków. Stanowią naturalną florę przewodu pokarmowego człowieka. Niektóre mogą być przyczyną chorób dróg moczowych i zatruc pokarmowych oraz zakażeń szpitalnych. Do ważniejszych należą: Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Enterococcus durans, które stanowią 95% rodzajów Enterococcus. Charakteryzują się naturalną opornością na antybiotyki.

Charakterystyka: ziarenkowiec G(+), wchodzi w skład flory fizjologicznej przewodu pokarmowego i pochwy, naturalnie oporny na wiele antybiotyków. Należy do paciorkowców zieleniejących (hemolizujących). Bakterie kałowe są mikroaerofilne, wymagają podłoża wzbogaconych w białko.

Chorobotwórczość:

- dorośli – zakażenia dróg moczowych, są czynnikiem etiologicznym próchnicy zębów i podostrego zapalenia wsierdzia, zapalenie gruczołu krokowego, bakteremia (cewnikowanie lub inwazyjne zabiegi na drogach moczowych),
- noworodki (wcześniaki z niską masą urodzeniową): bakteremia, posocznica, zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych.

G(+) BAKTERIE CYLINDRYCZNE

44. Corynebacterium diphtheriae

Corynebacterium diphtheriae (maczugowiec błonicy) jest bakterią G(+) która wchodzi w skład prawidłowej flory skóry, jamy nosowo-gardłowej, gardła, dróg moczowo-płciowych i przewodu pokarmowego. Jest to jedyny gatunek chorobotwórczy z rodzaju dyfteroidów. Charakteryzuje się brakiem otoczki i ruchliwości, jest katalazo(+), oksydazo(+), względnie tlenowa.

a) Czynniki chorobotwórcze

Szczepy które pod wpływem bakteriofaga (nosiciela genu TOX) stały się lizogenne wydzielają toksynę błoniczą. Wydzielanie toksyny jest regulowane przez dostępność żelaza.

Toksyna jest białkiem składającym się z dwóch frakcji:

- frakcja B jest podjednostką wiążącą – towarzyszy przy przyłączeniu do komórki i wnikania toksyny do jej wnętrza,
- frakcja A jest biologicznie czynną częścią toksyny.

Mechanizm działania: frakcja A katalizując przejście ADP z NAD-u do czynnika wydłużającego 2 (EF-2) blokuje wydłużanie łańcucha polipeptydowego. Dzieje się to poprzez blokowanie jakichś jednostek jak tRNA które nie łączy się z mRNA co w konsekwencji prowadzi do blokowania procesu translacji.

b) Choroby, ich patogeneza, objawy i epidemiologia

C. diphtheriae może powodować zakażenia skórne, aczkolwiek zakażenia zlokalizowane są zazwyczaj w ustnej części gardła. Po zakażeniu maczugowce przez 2-6 dni są w stanie inkubacji namnażając się.

Wydzielają toksynę która uszkadza nabłonek tworząc tzw. błony rzekome na migdałkach, jęczyczku podniebiennym, podniebieniu, i ścianach gardła. Egzotoksyna może dostać się do krwiobiegu powodując zapalenie mięśnia sercowego i obwodowa neuropatie. Objawami początkowymi są w zależności od umiejscowienia: bóle gardła lub nawet duszności prowadzące do uduszenia, objawy późne charakteryzują

się zaburzeniami rytmu serca, trudności w mówieniu, połykaniu i widzeniu. Zakażenie szerzy się głównie poprzez bliski kontakt i drogę kropelkowa. Do wykrywania toksyny używa się test ELEKA.

- c) W leczeniu stosuje się antytoksynę błonicza domięśniowo oraz penicylinę. W kalendarzu szczepień ma swoje miejsce szczepiona DI-PER-TE w której znajduje się antytoksyna przeciw objawom błonicy.

45. *Corynebacterium jeikeium* i *Corynebacterium urealyticum*

Corynebacterium jeikeium (dawna nazwa to JK) należy do pleomorficznych pałeczek G(+). Właściwie są to ziarniako – pałeczki, mogące tworzyć długie formy pałeczek i często charakterystycznie ułożone w kształty przypominające litery chińskie. Nie wytwarzają one przetrwalników, nie wykazują ruchliwości, są katalazo(+) i oksydazo(+). Rosną na agarze z krwią barana, w obecności 5-10% CO₂, w 37°C przez 24 h. Jeżeli chodzi o ich metabolizm, to nie fermentują węglowodanów z wyjątkiem glukozy, nie redukują azotanów ani nie wytwarzają ureazy.

Omawiany maczugowiec należy do bakterii oportunistycznych, izolowanych od pacjentów hospitalizowanych (głównie z moczu i z krwi). Może on wywoływać takie schorzenia jak: odmiedniczkowe zapalenie nerek i inne choroby układu moczowego, bakteremię, posocznicę oraz zapalenie sztucznych zastawek serca (PVE). Bakteriemia jest wynikiem zakażenia pacjentów z obniżoną odpornością, głównie na oddziałach transplantacyjnych (przeszczep szpiku, nerek) i onkologicznych. Ostatnio szczep izolowany jest z wydzielin dróg rodnych, ran i PMR.

Bakterie te są odporne na większość antybiotyków stosowanych w leczeniu, wykazują natomiast wrażliwość na wankomycynę oraz niektóre fluorochinolony.

Corynebacterium urealyticum (dawna nazwa to D-2) również należy do pleomorficznych pałeczek G(+) i podobnie układa się w kształty chińskich liter. Bakteria nie wytwarza przetrwalników, jest katalazo(+) oraz oksydazo(+). Pod względem metabolicznym bakteria nie rozkłada glukozy ani azotanów, produkuje natomiast ureazę, a niektóre szczepy fosfatazę zasadową i hippurazę.

Omawiany drobnoustrój należy do bakterii oportunistycznych, izolowanych od pacjentów hospitalizowanych, przede wszystkim starszych, z rozpoznaniem zapalenia płuc i pęcherza moczowego. Obecnie coraz częściej izolowana jest z innych materiałów, takich jak krew czy treść ropna.

Charakterystyczna jest oporność na ampicylinę i cefalotynę; mogą być wrażliwe na tetracyklinę i erytromycynę, a wankomycyna i norfloksacyna wykazują wysoką aktywność.

46. *Actinomyces*

Actinomyces to G(+) nitkowate bakterie wchodzące w skład flory fizjologicznej człowieka – gardła i przewodu pokarmowego. Charakteryzuje się względnie beztlenowymi warunkami wzrostu.

U ludzi drobnoustroje te powodują ropnie, często zlokalizowane w okolicy żuchwy oraz w obszarze klatki piersiowej i brzucha. Uszkodzenie błony śluzowej stwarza możliwość wtargnięcia *Actinomyces* do tkanek głębokich gdzie znajdują się warunki beztlenowe i może rozwinąć się zapalenie ropne. Klasycznym objawem jest drenujący ropień. W wydzielinie można zaobserwować makroskopowo żółte ziarna. Leczenie polega na drenażu ropni i podawaniu w dużych dawkach penicyliny G.

Chorobotwórczość:

- promienica (twarzy, szyi, klatki piersiowej, brzucha),
- zakażenia dróg rodnych (spirale domaciczne),
- zakażenia jamy ustnej (*Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces naeslundii*).

PRAŃKI

47. *Mycobacterium tuberculosis*

Prątki gruźlicy są bakteriami tlenowymi i nie tworzą zarodników. Do specyficznych cech tych pałeczek należy duża odporność na wysychanie oraz na działanie różnych czynników chemicznych, uwarunkowana między innymi przez hydrofobowy charakter powierzchni komórek – ich wzrost nie zostaje zahamowany w wyniku działania wielu czynników, które dla innych bakterii są szkodliwe, chociażby pod wpływem takich barwników, jak zieleń malachitowa, czy leków (np. penicyliny), a także niektórych enzymów lizosomalnych. Z tą właściwością prątków wiąże się również ich kwasooporność, która stanowi podstawę ich identyfikacji w preparatach barwionych specjalną metodą Ziehl – Neelsena.

O specyficznych właściwościach tej bakterii decydują:

- woski:
 - A (zawarty w nim kwas ftienowy warunkuje wirulencję),
 - Woski B i C zawierają dwumikolan trehalozy, czyli tak zwany czynnik wiązkowy, odpowiedzialny za zjadliwość poszczególnych szczepów i powodujący ich układanie się pod mikroskopem w charakterystyczne, spiralne warkocze. Występuje na zewnętrznej powierzchni, hamuje migrację wielojądrowych leukocytów i wywołuje tworzenie ziarniaków.
- Gdy uwalniany jest wewnątrzkomórkowo, powoduje uszkodzenia błon mitochondrialnych. Może również służyć jako adiuwant immunologiczny, dzięki któremu zabite lub osłabione prątki i ich składniki można wykorzystać do aktywacji odpowiedzi układu odpornościowego.
- białka – odpowiedzialne za powstanie nacieku komórkowego oraz za powstanie odczynu tuberkulinowego i wytwarzanie swoistych przeciwciał przeciwprątkowych
 - wielocukry – występowanie przyspieszonych reakcji wysiękowych w miejscu, do którego wniknęły prątki; te same wielocukry wywołują nieprawidłowy przebieg niektórych reakcji antygen – przeciwciała
 - sulfatydy – glikolipidy na powierzchni prątków – hamują tworzenie fagolizosomów, pozwalają prątkom na przeżycie wewnątrz cytoplazmy po wchłonięciu przez makrofagi, mogą też chronić przed obniżeniem pH wewnątrz fagolizosomów

Powolne tempo wzrostu jest inną charakterystyczną cechą prątków gruźlicy. Na klasycznych podłożach czas podwojenia liczby ich komórek wynosi około 18 godzin, czyli jest kilkadziesiąt razy dłuższy niż dla większości innych bakterii. Między innymi dlatego badanie materiałów biologicznych pobranych od pacjenta w celu sprawdzenia, czy w jego organizmie są prątki, trwa tak długo – w przypadku występowania prątków wzrost pierwszych kolonii w hodowli obserwuje się dopiero po czterech – sześciu tygodniach. Prątki mogą rozmnażać się i wewnątrzkomórkowo, i pozakomórkowo; ich rozwojowi sprzyja odpowiednie pH (ok. 7,4) oraz wysokie stężenie tlenu (dlatego prątki tak dobrze czują się w płucach).

Bakterie gruźlicy zakażają organizm człowieka przede wszystkim przez płuca (mogą się też dostawać do wnętrza ciała przez układ pokarmowy lub skórę, ale obecnie zdarza się to bardzo rzadko)

Prątki przedostają się do układu oddechowego nowego żywiciela w maleńkich kropelkach płwociny osoby chorej. Samo wniknięcie prątków do organizmu nie jest równoznaczne z zakażeniem; zakażenie nie zawsze prowadzi do zachorowania, a sama choroba może bardzo różnie przebiegać u poszczególnych osób (prawdopodobieństwo wystąpienia czynnej gruźlicy u zakażonego człowieka zależy między innymi od stanu układu odpornościowego, wieku, zjadliwości danego szczepu prątków, a nawet od uwarunkowań genetycznych - gruźlica częściej rozwija się u osób mających odpowiedni układ białek MHC).

Gruźlicą można zarazić się tylko od osób z czynnym procesem chorobowym. Samo nosicielstwo prątków gruźlicy nie pozwala rozsiewać bakterii tej choroby na prawo i lewo

Zakażenie następuje po wniknięciu małej liczby prątków do płuc (zwykle od jednej do trzech bakterii). Większe skupiska bakterii gruźlicy z reguły osiadają na błonie śluzowej nosa lub oskrzeli i zostają wydalone (jest to jeden z mechanizmów miejscowej odporności nieswoistej).

Prątki, które przedostały się do pęcherzyków płucnych, zostają pożarte przez makrofagi, które mogą zniszczyć bakterie. Jednak jeżeli makrofag jest względnie słaby i leniwy, to prątek może się mnożyć w jego cytoplazmie i w końcu to bakterie niszczą makrofaga, a nie odwrotnie. Dochodzi do uwolnienia rozmnożonych prątków do tkanki płucnej. Wtedy inne makrofagi krwi są przyciągane do chorej tkanki na drodze chemotaksji i rozwija się zapalenie wysiękowe. Czasem ten początkowy stan zapalny jest tak gwałtowny, że bez swego leczenia nie daje najmniejszych szans uratowania chorej osoby i w bardzo krótkim czasie prowadzi do zgonu, co zdarzało się zwłaszcza dawniej u młodych, mało odpornych osób.

Na tym etapie choroby nie występuje jeszcze odporność swoista przeciwko prątkom gruźlicy. To sprzyja bardzo szybkiemu rozsiewowi prątków za pośrednictwem naczyń chłonnych do pobliskich węzłów i do naczyń krwionośnych. Razem z krwią bakterie mogą trafić właściwie do wszystkich narządów (jednak najczęściej są to płuca, opony mózgowo-rdzeniowe, wątroba, śledziona, nerki, nadnercza, naczyniówka oka i nasady kości - właśnie ze względu na ich bardzo dobre ukrwienie). W takiej sytuacji rozwija się bardzo ciężka i często śmiertelna postać gruźlicy – tak zwana prosówka. (Nazwa pochodzi od pojawiających się w różnych narządach małych kolonii prątków gruźlicy – gruzelków, które wyglądają jak ziarna prosa.)

Pod mikroskopem w bocznej części gruzelków widać komórki nabłonkowe (czyli makrofagi, które zostały pobudzone do walki z prątkami), a w centralnej części są komórki olbrzymie typu Langhansa, czyli wielojądrowe komórki nabłonkowe. Na obwodzie gruzelków rozwija się włóknista tkanka łączna.

Jednak tak gwałtowny i niebezpieczny przebieg pierwszego etapu gruźlicy, czyli gruźlicy pierwotnej, zdarza się rzadko. Dzięki siłom odpornościowym organizmu gruźlica pierwotna z reguły wiąże się tylko z niewielkimi objawami nieswoistymi, takimi jak stany podgorączkowe, kaszel, poty nocne i utrata apetytu, a czasem przebiega zupełnie bezobjawowo.

Najczęściej po kilku dniach lub kilkunastu tygodniach od początku inwazji prątków pojawia się swoista odporność typu komórkowego. Wzrost prątków zostaje zahamowany, a miejsce walki prątków z układem odpornościowym – posprzątane. U niektórych osób pozostają zwapniałe ogniska w płucu i zwapniałe okoliczne węzły chłonne. Czasem gruźlicę ulegają martwicy serowatej albo włókniej.

Jak powstaje swoista odporność skierowana przeciw prątkom? Makrofagi, które stanowią pierwszą linię obrony przeciw bakteriom gruźlicy, umieszczają na swojej powierzchni częściowo strawione fragmenty pozartych prątków i prezentują te resztki bakterii limfocytom T i B. To prowadzi do pobudzenia limfocytów T i B. Limfocyty B przekształcają się w komórki plazmatyczne i produkują przeciwciała, które jednak nie mają większego znaczenia w procesie odporności na prątki. Natomiast pobudzone limfocyty T wydzielają różne limfokiny, które pobudzają inne komórki układu odpornościowego i inicjują powstanie miejscowego nacieku złożonego z mnożących się, pobudzonych limfocytów i makrofagów. Takie zaktywowane makrofagi zdecydowanie lepiej radzą sobie z fagocytozą i zabijaniem prątków, i stają się głównymi komórkami zaangażowanymi w odporność przeciwprątkową.

Jednocześnie układ odpornościowy zapamiętuje chemiczne składniki prątków. Ponowne wniknięcie prątków do organizmu wywołuje bardzo silny odczyn zapalny w miejscu nowej inwazji bakterii dzięki zjawisku pamięci immunologicznej.

Niestety te wszystkie procesy rzadko zapewniają całkowitą eliminację prątków. Zjadliwe prątki mogą powoli rozmnażać się w organizmie lub pozostawać w stanie uśpienia, z którego mogą się obudzić na przykład po osłabieniu układu odpornościowego przez inną chorobę. Czasem makrofagi nie radzą sobie z niszczeniem bakterii i prątki gruźlicy podróżują w makrofagach do innych części organizmu; w ten sposób choroba może się rozprzestrzeniać. Bakterie mogą także przetrwać w zwapniałych węzłach chłonnych lub tkankach objętych martwicą serowatą, do których pobudzone makrofagi nie mogą się przedostawać. Prawdopodobnie prątki gruźlicy potrafią także wydzielać substancje, które zaburzają działanie układu odpornościowego.

Dlatego u części osób (około 3-4% ludzi, którzy przebyli gruźlicę pierwotną) w ciągu kilku lat od chwili pierwotnego zakażenia rozwija się gruźlica wtórna. Przyczyną gruźlicy wtórnej najczęściej jest wzmożone rozmnażanie i ponowny atak prątków, które zostały "obudzone z drzemki", chociaż czasem dochodzi do ponownego zakażenia *M. tuberculosis*. Podczas takiego powtórnego zakażenia mechanizmy odporności nabytej zostają bardzo szybko uruchomione i dochodzi do zniszczenia prątków

Ale jeśli proces niszczenia prątków jest bardzo nasilony (na przykład wtedy, gdy dochodzi do uaktywnienia dużej liczby bakterii), może dojść do rozległego procesu zapalnego, serowacenia i upłynniania powstałych mas serowatych. Towarzyszy temu dalsze, pozakomórkowe rozmnażanie się prątków. Wtedy prątki mnożą się coraz szybciej ze względu na dużą dostępność tlenu. Czasem może się to skończyć przebicciem martwych, zserowaciałych tkanek do oskrzeli i powstaniem jamy w płucu. W innych przypadkach dochodzi do zwłóknienia chorych tkanek. Jednak w takim stadium choroby obrona organizmu często jest bezskuteczna i kończy się śmiercią, jeśli nie zastosuje się odpowiedniego leczenia.

O charakterze i rodzaju objawów wtórnego procesu gruźliczego decyduje intensywność, rodzaj i faza reakcji obronnych układu odpornościowego. Typowe objawy to przewlekły kaszel, krwioplucie, krwotoki płucne, chudnięcie, bóle w klatce piersiowej, duszności i zmiany w opłucnej.

Taka powtórna inwazja prątków też może doprowadzić do gruźlicy prosówkowej, jednak powtórną wzrost poziomu bakterii we krwi prowadzi z reguły do zaatakowania najwyżej jednego narządu poza płucami (gruźlica pozapłucna stanowi około 10% przypadków gruźlicy wtórnej). Objawy zależą wtedy od lokalizacji wtórnych ognisk gruźliczych. Gruźlica pozapłucna często przebiega z objawami wskazującymi na istnienie zupełnie innej choroby – mówi się o maskach gruźlicy Sokołowskiego.

Prątki atenuowane wykorzystane do czynnego uodporniania ludzi przeciwko gruźlicy; organizm, który zetknie się z takimi osłabionymi prątkami, bardzo szybko uruchamia mechanizmy pamięci immunologicznej. Wszystkie noworodki w Polsce są szczepione atenuowanymi prątkami BCG (*Bacillus Calmette-Guerin*) w pierwszej dobie życia.

Udało się też rozwiązać problem kontroli skuteczności uodporniania (szczepienie BCG powoduje wzrost odporności na pewien ograniczony okres czasu). Oczyszczone pochodne tuberkuliny – PPD (purified protein derivatives). Śródskórne wstrzyknięcie 5 jednostek tej tuberkuliny wywołuje po 24-48 godzinach miejscową reakcję zapalną w postaci stwardnienia, obrzęku i zaczerwienienia, pod warunkiem, że osoba, której podano tuberkulinę, jest odporna na zakażenie gruźlicą albo wskutek szczepienia, albo wskutek przebycia gruźlicy pierwotnej. Wynik odczytuje się po 72 godzinach i uważa się go za dodatni, jeśli stwardnienie w miejscu wstrzyknięcia tuberkuliny ma średnicę przynajmniej 10 milimetrów.

Ujemny wynik próby tuberkulinowej może świadczyć o tym, że badana osoba nigdy nie zetknęła się z prątkami, lub o wygaśnięciu odporności poszczepiennej albo związanej z przebyciem choroby. Dlatego próba tuberkulinowa jest przydatna także w diagnostyce i ocenie postępów leczenia gruźlicy. Najważniejsze jest zaobserwowanie zmiany odczynu uprzednio ujemnego na dodatni.

Duże znaczenie ma badanie bakteriologiczne (najczęściej bada się płwocinę, ale także popłuczyny oskrzelowe czy żołądkowe); prześwietlenie klatki piersiowej; czasem wykonuje się bronchoskopię lub badania

czynnościowe układu oddechowego. Niedawno opracowano technikę BACTEC, która wykrywa kwasy tłuszczowe prątków i pozwala na wcześniejsze uzyskanie wyników niż zwykła hodowla bakteriologiczna, która trwa przez kilka tygodni. Można też stosować technikę PCR, która pozwala w ciągu kilku godzin wykryć materiał genetyczny prątków w płwocinie albo tkankach badanej osoby.

48. *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae jest czynnikiem etiologicznym trądu. Istnieją jego dwie postacie – typ populacji limfocytów Th, warunkuje, która postać się rozwinie. U chorych gdzie dominuje typ odpowiedzi:

- Th₁ – postać tuberkuloidowa (silna odpowiedź typu komórkowego) na antygeny prątka trądu,
 - Th₂ – postać lepromatyczna (słaba odpowiedź komórkowa).
-
- postać tuberkuloidowa
 - plamki i rozległe odbarwienia skóry,
 - ziarniniakowate zmiany mają wyniosłe i rumieniowate brzegi, suche i pozbawione włosów centrum, które może być odbarwione,
 - zmiany są skąpoprątkowe,
 - *M. leprae* wnika do nerwów czuciowych- zniesienia czucia w obrębie ogniska, prowadzące do ciężkich zakażeń bakteryjnych,
 - liczne komórki olbrzymie i nacieki limfocytarne
 - postać lepromatyczna
 - prątki rozsiewają się drogą krwi, nie obserwuje się zajęcia narządów wewnętrznych,
 - zmiany rozległe, rozsiane, ziarninowanie,
 - bogatoprątkowe,
 - rozlane zajęcie nerwów czuciowych – miejscowe zniesienie czucia,
 - zniekształcenie twarzy – gromadzenie się prątków w tkance podskórnej, rozległe uszkodzenie kolagenu i bliznowacenie – pogrubienie luźnej skóry na czole, wargach i uszach – lwia twarz.
 - występuje też postać graniczna (ang. border-line)

Drogi przenoszenia:

- trąd nie jest bardzo zakaźny,
- przez wdychanie zakażonych kropelek,
- okres wylegania od kilku miesięcy do 20 lat

Rozpoznanie:

- zeskorbiny lub biopaty z chorobowo zmienionych miejsc – charakterystyczne zmiany,
- *M. leprae* nie daje się hodować na podłożach bakteriologicznych,
- test z leprominą

49. Prątki atypowe

Prątki atypowe = prątki inne niż gruźlicze (*Mycobacteria Other Than Tuberculosis* = MOTT) / (*Non-tuberculosis Mycobacteria* = NTM)

- *M. kansasii* – powoduje choroby płuc i zakażenia skóry i podskórnych węzłów chłonnych, poprzez mleko i wodę,
- zespół *M. avium-intraclulare* – kilka gatunków serologicznie nierozróżnialnych:
 - zakażenia oportunistyczne u pacjentów w immunosupresji
 - znaczna odporność na leki przeciwprątkowe
- *M. scrofulaceum*:
 - ziarniniakowate powiększenie węzłów chłonnych na szyi u dzieci
 - choroby płuc
- zespół *M. fortuitum* – wolno żyjące, szybko rosnące prątki; rzadko wywołują choroby u ludzi, miejscowe ropnie w miejscach wstrzyknięć narkotyków
- *M. marinum* – rośnie w niższych temperaturach, występuje w wodzie; powoduje guzkowe owrzodzenie skóry miejscu urazu, przez układ chłonny na wątrobę

G(+) LASECZKI

50. *Bacillus anthracis*

Bacillus anthracis to przetrwalnikująca laseczka G(+), blisko spokrewniona *B. cereus*. Rozwija się w warunkach tlenowych i względnie beztlenowych. Endospory tworzą się pośrodku komórki (wymagana sterylizacja w autoklawie). Do czynników wirulencji należą: otoczka, warstwa S (S-layer) i egzotoksyna.

- otoczka

Szczepy wytwarzające otoczkę łatwo jest odróżnić na podstawie wyglądu kolonii (gładkie i śliskie). Otoczka złożona jest z polimeru kwasu D-glutaminowego. Synteza otoczki:

- następuje w organizmie (CO₂),
- kodowana jest przez plazmid pXO2,
- konieczna jest ekspresja 3 genów: capB, capC i capA kodujących enzymy związane z błoną komórkową bakterii,
- w regulacji ekspresji genów uczestniczą produkty genów acpA (pOX2) oraz atxA (pOX1).

Szczepy nie wytwarzające otoczki (pozbawiona plazmidu pOX2) wykazują obniżoną wirulencję. Otoczka ma właściwości antyfagocytarne.

- egzotoksyna *B. anthracis*:

- egzotoksyna składa się z trzech białek kodowanych przez geny: pagA, cya, lef znajdujące się na plazmidzie pXO1,
- modelowa toksyna typu A-B
- podjednostka B – czynnik PA – wiąże się na powierzchni komórek eukariotycznych z receptorami ATR (anthrax toxin receptor) i wprowadza podjednostkę A do cytozolu
- pozostałe dwa białka: czynnik EF i czynnik LF – mają aktywność enzymatyczną; każde z nich stanowi odrębną podjednostkę A, w związku z tym mamy do czynienia z dwiema toksynami:

- EdTx

Czynnik EF- PA prowadzi do obrzęku

EF – po związaniu się z obecną w komórce kalmoduliną nabywa właściwości cyklicznej adenylanowej – enzymu, który katalizuje reakcję przejścia ATP w cykliczny AMP (cAMP). Prowadzi to do gwałtownego, nawet tysiąckrotnego wzrostu stężenia tego związku w komórce. Ponieważ cAMP jest cząsteczką sygnałową, należąca do tzw. przekaźników II typu, które regulują szereg procesów zachodzących w komórkach eukariotycznych, działanie EF zakłóca ich prawidłowy przebieg. Efektem rozregulowania procesów wewnątrzkomórkowych – zwłaszcza zaburzenia transportu jonów – jest wydzielanie przez komórki na zewnątrz elektrolitów i utrata wody.

- LeTx

Czynnik LF-PA prowadzi do śmierci

LF – jest proteazą cynkową, która inaktywuje wewnątrzkomórkowe kinazy MEK (MEK1, MEK2, MEK3), stanowiące jedno z ogniw szlaków sygnałowych przekazujących zewnętrzne bodźce do wnętrza komórki eukariotycznej. Serynowo – treoninowe kinazy MEK fosforylują, a tym samym aktywują inne kinazy – tak zwane kinazy MAPK, które z kolei uczestniczą m.in. w regulacji cyklu komórkowego i aktywacji limfocytów i makrofagów.

Dokładny mechanizm działania obydwu toksyn nadal nie jest poznany:

- wzrost syntezy IL-6,
- dysregulacja syntezy cytokin prozapalnych: IL-1 β , TNF- α , szok septyczny, MOF,
- obniżenie poziomu NO (konieczny do wyjścia leukocytów z łożyska naczyniowego)

- Odmiana płucna (wziewna)

Okres inkubacji choroby trwa około od 2 do 43 dni. Endospory *B. anthracis*, które pojawiają się w układzie oddechowym są fagocytowane przez makrofagi. Nie wszystkie jednak przetrwalniki są niszczone i paradoksalnie – makrofagi, które powinny zwalczać bakterie przenoszą przetrwalniki w głąb organizmu do węzłów chłonnych tchawicy i oskrzeli. Tam następuje kiełkowanie endospor, proces ten może nastąpić nawet po 60 dniach od momentu zetknięcia się z bakteriami. Kiedy w organizmie pojawią się wegetatywne komórki *B. anthracis* wytwarzające toksynę, choroba zaczyna rozwijać się w dość szybkim tempie. Chory ma ogólnie złe samopoczucie podobnie jak w przypadku grypy; typowe symptomy to gorączka, bóle mięśni, bóle głowy i suchy kaszel. Po tych objawach u niektórych osób często następuje krótki pozorny okres poprawy trwający od 1 do 3 dni, po którym rozwija się druga, ostra faza choroby. Pojawia się wówczas wysoka gorączka, zapalenie śródpiersia i krwotoczny obrzęk płuc. W niektórych przypadkach

dochodzi także do zapalenia opon mózgowych. Jeśli chory nie został poddany leczeniu na 48 godzin przed pojawieniem się objawów ostrej fazy zakażenia w 95% przypadków następuje śmierć.

- Odmiana skórna choroby
Na skórze w miejscu, gdzie wniknęły przetrwalniki pojawia się obrzęk. Jest to wynik działania czynnika EF, który wytwarzają bakterie *B. anthracis* zaraz po wykiełkowaniu. Zwykle po dobie od momentu zakażenia pojawia się grudka, która z czasem zmienia się w krostę przypominająca kolorem węgiel. Na skutek martwicy tkanki (działanie toksyny – czynnika LF) krostka przekształca się we wrzód martwiczy, z którego zakażenie może się rozprzestrzenić na cały organizm wywołując posocznicę (uogólnione zakażenie ustroju). W takim przypadku w 1 ml krwi stwierdza się nawet około 100 milionów komórek bakteryjnych. Kuracja antybiotykowa zastosowana po zauważeniu zmian skórnych daje właściwie całkowitą gwarancję na wyleczenie choroby. W przypadku nie podjęcia leczenia śmiertelność szacuje się na około 20%.
- Po spożyciu skażonego pokarmu np. niedogotowanego mięsa chorych zwierząt – postać jelitowa.

Rodzaj *Clostridium* liczy ponad 60 gatunków. Większość żyje w glebie, niektóre osiedlają się w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt i można je wyhodować z kału (np. *C. putrificum*, *C. ramosum*, *C. bifermentans*). Inne występują w narządach rodnich kobiet (*C. ghoni*), czy w zakażonych ranach (np. *C. fallax*, *C. paraperfringens*, *C. tertium*, *C. sporogenes*). Kilka z nich wykazuje wybitną chorobotwórczość uwarunkowaną wytwarzaniem bardzo silnych egzotoksyn. Są to: laseczka tężca (*C. tetani*), laseczka jadu kiełbasianego (*C. botulinum*) oraz grupa laseczek zgorzeli gazowej i obrzęku złośliwego (*C. perfringens*, *C. septicum*, *C. histolyticum*).

Laseczki należące do rodzaju *Clostridium* mogą rozwijać się tylko w warunkach beztlenowych. W swym aparacie enzymatycznym nie posiadają cytochromów ani oksydazy cytochromowej, w związku z czym nie mogą wykorzystywać tlenu atmosferycznego jako ostatecznego akceptora wodoru. Nie wytwarzają także katalazy i peroksydazy. Prawie wszystkie posiadają rzęski, nieliczne tworzą otoczki. Przetrwalniki wytwarzane przez te drobnoustroje mają najczęściej średnicę większą od szerokości komórki.

51. *Clostridium tetani*

Clostridium tetani to bakteria Gram(+) tworząca przetrwalniki (spory) umieszczone na końcu komórki, w obrazie mikroskopowym przypominające "pałeczki dobosza". Należy do bezwzględnych beztlenowców (żyją i rozwijają się jedynie w środowisku pozbawionym tlenu atmosferycznego).

W miejscu zakażenia *C. tetani* wydziela tetanospazminę – silną neurotoksynę która powoduje nagromadzenie się acetylocholino w płytkach nerwowo-mięśniowych powodując porażenie spastyczne.

Zakażenie następuje podczas urazów penetrujących skażonych glebą, warunkujących rozwój beztlenowy - drobnoustrojów zaczyna wydzielać toksynę, która drogą aksonalną dociera do rdzenia kręgowego, w którym zaburza działanie hamujące neuronów wstawkowych.

Okres inkubacji trwa od kilku dni (w przypadku ciężkiego przebiegu choroby) do miesiąca (w przypadku mniej groźnego zakażenia).

Rezerwuary: gleba, ścieki, odchody.

Objawy kliniczne:

- tężec miejscowy,
- tężec obejmujący mięśnie głowy związany z zaburzeniem funkcji jednej z gałęzi nerwu twarzowego (VII),
- tężec uogólniony – najczęstszą postacią choroby charakteryzuje skurcz silnych grup mięśni: szczękocisk, uśmiech sardoniczny

Leczenie:

- chirurgiczne opracowanie rany,
- należy podać immunoglobulinę tężcową i anatoksynę tężcową aby uzyskać bierną a następnie czynną i długotrwałą odporność,
- lekiem z wyboru jest penicylina,
- leczenie podtrzymujące: podtrzymanie oddychania, izolacja pacjenta, trzymanie go w miejscu cichym i ciemnym, ponieważ silne bodźce zewnętrzne mogą wywołać napady skurczowe.

Profilaktyka – uodpornienie anatoksyną tężcową po podaniu szczepionki Di-Per-Te.

52. *Clostridium botulinum*

Laseczka wytwarza egzotoksyny (A-G) – każda z nich zawiera rejon aktywny i wiążący. A-Fto neurotoksyny powodujące zahamowanie uwalniania acetylocholino i przez to porażenie wiotkie. Toksyna botulinowa – wiąże się swoiście z neuronami, w których hamuje uwalnianie acetylocholino na synapsach.

Toksyna C2 wiąże się z różnymi typami komórek; jest ona odpowiedzialna za reorganizację cytoszkieletu komórek i działają jak enterotoksyna.

Leczenie botulinizmu polega na podaniu swoistej antytoksyny.

Botulinizm – wywołany jest spożyciem egzotoksyny białkowej (neurotoksyny) syntetyzowanej przez *Clostridium botulinum*. Spożyta z pokarmem toksyna (intoksykacja) jest absorbowana do krwiobiegu już w żołądku. Różne szczepy *Cl. botulinum* wytwarzają jedną z sześciu toksyn (A-F). Chorobę u ludzi wywołują toksyny typu A lub B, sporadycznie typ E. Typy C i D związane są z zatruciami u zwierząt. Toksyny botulinowe nie są niszczone przez enzymy trawienne i są stosunkowo odporne na ogrzewanie – niszczy je temperatura 80°C po 30 min.

Toksyna botulinowa powoduje porażenie poprzez blokadę połączeń nerwowo-mięśniowych. Połączenie toksyny z neuronami jest nieodwracalne. Objawy zatrucia ujawniają się w ciągu 4 – 36 godzin po spożyciu toksyny. Szybkość pojawienia się objawów oraz przebieg kliniczny zatrucia są proporcjonalne do dawki spożytej toksyny. Początkowe objawy obejmują wymioty, ból głowy, podwójne widzenie, splątanie mowy i inne objawy neurologiczne. Zaburzenia w zakresie układu autonomicznego i porażenie mięśni gładkich mogą być przyczyną niestabilności ciśnienia tętniczego i zaburzenia funkcji jelit. Śmierć następuje w wyniku porażenia ośrodka oddechowego oraz zaburzenie pracy serca. U osób, które przeżyły zatrucie toksyną botulinową często występują trwałe zaburzenia neurologiczne.

Botulinizm niemowląt (toksykoinfekcja) – najczęściej dochodzi do niego w wyniku spożycia przez niemowlę miodu zanieczyszczonego przetrwalnikami *Clostridium botulinum* a także *Cl. baratti* i *Cl. butyricum*. Pomimo, że stężenie przetrwalników w miodzie jest niewielkie, u niemowląt poniżej 1 r. ż. niepełnie rozwinięta flora jelita (szczególnie beztlenowa okrzęnicy) umożliwia kiełkowanie spor do form wegetatywnych syntetyzujących toksynę botulinową, która wchłania się do krwiobiegu. Z uwagi na to, że toksyna o wiele wolniej wchłania się z jelita grubego niż z żołądka, rozwój botulinizmu niemowląt jest dłuższy niż u dorosłych. Objawy kliniczne botulinizmu u niemowląt są trudne do zaobserwowania, mimo to botulinizm rzadko jest przyczyną nagłej śmierci niemowląt.

Równie rzadko występuje botulinizm przyranny, na skutek zanieczyszczenia rany ziemią, w której są obecne spory. W beztlenowych warunkach spory kiełkują a powstałe formy wegetatywne wytwarzają toksyny absorbowane do krwiobiegu.

53. *Clostridium perfringens*

Laseczki znajdują się zwykle w odchodach, jednakże w znacznie mniejszych ilościach niż *E. coli*. Organizmy te nie są wyłącznie pochodzenia kałowego i mogą pochodzić z innych źródeł naturalnych. Przetrwalniki tych bakterii mogą przetrwać w wodzie znacznie dłużej niż bakterie z grupy coli i są odporne na dezynfekcję. Cechą charakterystyczną tych organizmów jest zdolność do długiego przeżywania w środowisku, a więc mogą one być wskaźnikiem sporadycznych czy dawnych zanieczyszczeń.

Laseczki *C. perfringens* to grupa szczególnie niebezpiecznych bakterii, mogą one wywołać zatrucia pokarmowe, zakażenia ran oraz zakażenia szpitalne. Istnieje kilka typów *C. perfringens*, oznaczonych jako typy serologiczne A – E. Jeden z nich jest nawet naturalnym składnikiem flory jelitowej i żeńskich dróg rodnych. Dla człowieka szczególnie niebezpieczne są typy A i E, produkujące kilkanaście toksyn.

Egzotoksyny:

- Toksyna α (hydrolizująca lecytynaza) ma bardzo silne właściwości nekrotyzujące i hemolityczne.
- Toksyna κ (kolagenaza) odpowiada za niszczenie tkanek w czasie trwania zgorzeli gazowej. Objawy zatrucia pokarmowego *Cl. perfringens* występują zwykle po 8 – 12 godzinach od spożycia skażonych potraw, czas ten może jednak wynieść nawet 24 godziny. Są to gwałtowne i bardzo silne bóle brzucha z niewielką biegunką, często domieszką krwi.

Chorobotwórczość:

- Do pokarmowego zatrucia laseczką zgorzeli gazowej (*Clostridium perfringens* typu A) dochodzi najczęściej w wyniku spożycia skażonych potraw: konserw mięsnych i warzywnych, miodów. Innym źródłem jest woda, głównie ścieki. Czynnikiem determinującym toksyczność *C. perfringens* typu A jest wytwarzana przez bakterie w jelicie enterotoksyna. Powoduje ona m.in. zahamowanie transportu glukozy, utratę białek, uszkodzenie nabłonka jelitowego. Jak wcześniej wspomniano, do zatrucia dochodzi w wyniku spożycia żywności skażonej sporam, które są niestety bardzo odporne na temperaturę. Nawet długie gotowanie niewiele pomaga. Do uwolnienia samej enterotoksyny dochodzi w czasie rozwijania się spor w dojrzałe komórki bakteryjne w jelicie cienkim i grubym.

Dużym problemem jest diagnostyka zatrucia pokarmowego *C. perfringens*, bowiem identyfikacja tej laseczki w kale o niczym nie świadczy, gdyż pewnie jej szczepy są naturalnym składnikiem flory jelitowej. Mniej niż 1000 bakterii w jednym gramie kału jest wartością typową dla flory fizjologicznej natomiast powyżej 1000000 świadczyć może o zatruciu.

- Bakterie *C. perfringens* innych typów występujące powszechnie w wodzie, ściekach, glebie mogą wywoływać zakażenie skóry i tkanki podskórnej. Niewątpliwie najgroźniejsza jest zgorzel gazowa, występująca w skażonych głębokich ranach. Okres od zakażenia rany laseczkami zgorzeli gazowej do wystąpienia pierwszych objawów, jakimi są silny ból i obrzęk rany, mija od kilku do kilkudziesięciu godzin. Natężenie miejscowego bólu i dalszych objawów zależy od tego czy zakażeniu uległa tylko skóra i tkanka podskórna czy też również tkanka mięśniowa. Z rany zaczyna sączyć się wydzielina o barwie od przezroczystej do krwistobrunatnej. Dołącza się również silny i twardy obrzęk tkanki otaczającej ranę, będący wynikiem wyniszczającego działania toksyny κ (kolagenazy). W tkance otaczającej ranę dochodzi ponadto do zakrzepów drobnych naczyń krwionośnych. Przy uciskaniu zakażonej rany wyczuwa się trzeszczenie banieczek gazu wytwarzanego przez laseczki *C. perfringens*. Po kilku godzinach od wystąpienia pierwszych objawów obserwuje się bardzo często znaczną gorączkę, wymioty, bóle brzucha, krwistą biegunkę.
Leczenie zgorzeli gazowej polega na chirurgicznym opracowaniu rany, podawaniu antybiotyków z grupy penicyliny i leczeniu tlenem hiperbarycznym (hamuje wzrost i uwalnianie toksyn przez bezwzględnie beztlenowe laseczki). Istnieje pogląd, iż po każdym głębszym zranieniu należy profilaktycznie podać antybiotyki.
Teoretyczne zagrożenie zanieczyszczeniem sporami *C. perfringens* każdej głębszej rany, powinno uczulić wszystkich na baczne obserwowanie ich wyglądu i bolesności przy ucisku.
- Innym schorzeniem wywołanym przez *C. perfringens* jest miejscowe zapalenie tkanki podskórnej, spotykane często u chorych na cukrzycę, np. po amputacji kończyny.
- Zakażenie ropne i ropienie wywoływane przez *C. perfringens* spotyka się w pęcherzyku żółciowym, macicy, jajowodach i jamie brzusznej.
- Toksyna typu C wywołują może z kolei martwicze zapalenie jelita cienkiego, polegające na odsłonięciu ściany jelita przez proces owrzodzeniowy.
- Laseczka *C. perfringens* jest także przyczyną licznych zakażeń szpitalnych, będących wynikiem zanieczyszczenia rany lub tkanek w czasie operacji przez kał lub wydzielin dróg rodnych (w których laseczki *C. perfringens* występują jako składniki naturalne). W takiej sytuacji powinno być natychmiast wdrażane leczenie antybiotykami β -laktamowymi w połączeniu z innymi antybiotykami o szerokim spektrum działania.
- *C. perfringens* to także potencjalna przyczyna bakteremii, która objawia się obecnością laseczek zgorzeli gazowej w krwi obwodowej. Przekształcić się może ona w posocznice: ciężką chorobę układową z zaburzeniami hemodynamicznymi i towarzyszącą im niewydolnością narządów i układów. Laseczki pochodzą mogą z dróg żółciowych, okrężnicy, macicy. Przebieg posocznicy wywołanej przez *C. perfringens* jest zwykle bardzo ciężki, występuje gorączka, ostra martwica nerek, niskie ciśnienie tętnicze krwi, nasilona hemoliza wewnątrznaczyniowa (wywołana przez α – hemolizynę *C. perfringens*).
- Bardzo ciężka postać posocznicy wywołanej przez *C. perfringens* wystąpić może w przebiegu poronienia. Towarzyszą jej oprócz typowych, opisywanych powyżej objawów, silne bóle mięśni, bolesne kurcze jelit, nudności, wymioty, biegunka, krwawe lub brunatne cuchnące upławy. Wystąpić może także skąpomocz, żółtaczką, hemoliza wewnątrznaczyniowa i wstrząs.

54. *Clostridium difficile*

Clostridium difficile jest czynnikiem etiologicznym rzekomobłoniastego zapalenia jelita grubego (colitis pseudomembranacea). U 5 – 10% zdrowych ludzi i u ok. 25-30% pacjentów hospitalizowanych, występuje w przewodzie pokarmowym w niewielkich ilościach. Obfite namnażanie tej laseczki jest tłumione przez bakterie flory fizjologicznej (głównie inne beztlenowce), ale w stanach zniszczenia flory naturalnej antybiotykoterapią (szczególnie stosowaniem cefalosporyn i klindamycyny) laseczki te namnażają się i kolonizują jelito.

Laseczki *Clostridium difficile* syntetyzują 2 egzotoksyny: A i B, odpowiedzialne za kliniczne objawy zakażenia:

- Toksyna A jest enterotoksyną – mechanizm jej działania jest odmienny niż enterotoksyn pałeczek np. z rodzaju *Escherichia*, ale podobnie jak w przypadku innych enterotoksyn, jej działanie prowadzi do akumulacji płynu w świetle jelita. Ponadto uszkadza ona enterocyty, co prowadzi do rozwoju odczynu zapalnego w jelicie.
- Toksyna B jest cytotoxyną.

Wodnista biegunka pojawia się po 3 – 4 dniach antybiotykoterapii (rzadko występują samoistne przypadki rzekomobłoniastego zapalenia jelita, bez stosowania antybiotyków).

W biopsjach jelita grubego stwierdza się typowe zmiany z ogniskowym zapaleniem tkanki limfoidalnej. Uszkodzenie błony śluzowej i wysięk zapalny prowadzą do powstania grubych błon rzekomych, wydalanych przez chorego z kałem. Po odstawieniu antybiotyków może nastąpić powolna poprawa, jednak w wielu nie leczonych przypadkach może dojść do postępującego zapalenia i perforacji jelita.

W 10 – 20% przypadków leczonego zapalenia jelita o etiologii *Cl. difficile* zdarzają się nawroty choroby, na skutek sporulacji laseczek pod wpływem leczenia. Przetrwalniki odporne na działanie leków utrzymują się w jelicie i mogą ponownie kiełkować i kolonizować jelito.

Izolacja *Cl. difficile* z kału nie pozwala na rozpoznanie rzekomobłoniastego zapalenia jelita. Ustalenie rozpoznania wymaga stwierdzenia w kale obecności toksyn za pomocą testów serologicznych np.: ELISA. Histopatologiczne zmiany w biopatach jelita grubego mają znaczenie diagnostyczne.

Lekami z wyboru w leczeniu colitis pseudomembranacea są wankomycyna lub metronidazol, choć opisano szczepy *Cl. difficile* odporne na metronidazol.

G(-) ZIARNIAKI

Ziarenkowce G(-) mają nerkowaty kształt, często występują jako dwoinki, mają otoczkę i są urzęsione. Tlenowe, oksydazo(+), cechują się skomplikowanymi wymaganiami odżywczymi.

Należą tutaj 2 chorobotwórcze gatunki: *N. meningitidis* i *N. gonorrhoeae*. Różnicujemy je na podstawie serotypowania lub zużycia węglowodanów (*N. gonorrhoeae* zużywa tylko glukozę). Bakterie te nie posiadają zwierzęcych rezerwuarów, są szeroko rozpowszechnione w świecie.

55. *Neisseria meningitidis*

Jedna z najbardziej zjadliwych bakterii chorobotwórczych dla człowieka. Są one podzielne na 9 grup serologicznych na podstawie różnic antygenowych polisacharydowych otoczek. Wyróżniamy serogrupy: A, B, C, X, Y, Z, 29e, L, W-135. A, B, C i Y są najczęściej patogenne dla człowieka. W serogrupie B i C wyodrębniono serotypy. Serotyp 2 jest najczęściej izolowany od ludzi z zapaleniem opon m-r.

Czynniki determinujące chorobotwórczość:

- czynnik przylegania – fimbrie umożliwiają przyleganie do śluzówki jamy ustnej, gardła i opon m-r,
- otoczką – polisacharydową, antyfagocytarną,
- lipopolisacharyd (LPS, endotoksyna),
- proteazy IgA – rozcinają IgA w miejscu zawiasowym.

N. meningitidis jest przenoszona z wydzielinami dróg oddechowych. Nosicielstwo w jamie nosowo-gardłowej może być bezobjawowe i wynosi 3 – 20%. Wysoka częstość zakażeń na oddziałach dziennej opieki i koszarach wojskowych. Śmiertelność w przypadkach nie leczonych sięga aż 85%.

N. meningitidis przylega do komórek nabłonka nosa i gardła, przenika do krwi i dosięga opon m-r, namnażając się i powodując zapalenie.

Objawy kliniczne:

- Choroba gorączkowa – najłagodniejsza forma zakażenia. Hodujemy krew, aby wykazać bakterie.
- Zapalenie opon m-r – ból głowy, gorączka, sztywność karku, wymioty, bóle mięśniowe, stawowe, zaburzenia stanu psychicznego, śpiączka.
- Ostra posocznica meningokokowa – uogólnione zakażenie prowadzące do sepsy, krwawe wybroczyny na skórze, DIC, śmierć po 8-12 h. Początkowo pojawia się wysypka, martwica czy zgorzel palców, później hipotensja, uszkodzenie wielonarządowe i wstrząs septyczny, które rozwijają się szybko na skutek uwalniania endotoksyny. Narządy są uszkodzane przez niedotlenienie lub krwotok.
- Zapalenie gardła, zapalenie płuc i objawy zwykle związane z *N. gonorrhoeae* (np. zapalenie cewki moczowej).

Wykonuje się następujące badania:

- Badanie płynu m-r z nakłucia lędźwiowego przed rozpoczęciem antybiotykoterapii – oznaczanie białek, glukozy, białych płytek krwi. Leukocytoza z przewagą neutrofilii sugeruje zakażenie bakteryjne / grzybicze, mało leukocytów z przewagą limfocytów sugeruje wirusy / gruźlicę. W bakteryjnym zapaleniu opon m-r w płynie mamy wzrost stężenia białka (rozpadają się komórki i spadek stężenia cukru (konsumpcja przez bakterie)).
- Barwienie metodą Gramma – informacje o morfologii komórek i barwieniu.
- Posiew – wrażliwość na antybiotyki, rutynowo do leczenia.
- Testy do szybkiej diagnostyki – aglutynacja lateksu opłaszczonego przeciwciałami.
- Posiew krwi.

Leczenie: penicylina G, cefalosporyny III i IV generacji (dobrze penetrują do opon), karbapenemy, monobaktamy, chloramfenikol (u uczulonych na penicylinę).

Nosicielstwo likwiduje się przy pomocy rifampicyny, ceftriaksonu, ciprofloksacyny.

Dostępna jest szczepionka z otoczek polisacharydowych serotypów A i C.

56. *Neisseria gonorrhoeae*

Zidentyfikowano 16 serotypów na podstawie białka błony cytoplazmatycznej.

Czynniki determinujące chorobotwórczość:

- fimbrie – odpowiedzialne za przyleganie do komórek,
- zewnętrzne białka błonowe: I – związane z opornością na surowice, inwazyjnością, rozprzestrzenianiem; II – białka Opa, czynniki zjadliwości, umożliwiają przyleganie do komórek, właściwości fagocytarne,
- otoczka – chroni przed fagocytozą,
- endotoksyna – rola w rozprzestrzenianiu zakażenia,
- peptydoglikan – czynnik prozapalny,
- proteaza IgA – chroni przed IgA na błonach śluzowych,
- β -laktamaza – kodowana plazmidowo.

Bakterie przylegają do komórek nabłonkowych cewki moczowej, dróg płciowych, odbytu, gardła, następnie wnikają do komórek i penetrują do przestrzeni podnabłonkowej, powodując ropne zakażenia. Ma miejsce zarówno bezpośrednie szerzenie się jak i za pomocą krwi. Przenoszona jest z człowieka na człowieka przez stosunki płciowe, podczas porodu na dziecko. Najczęściej dotyka dorosłych między 20-24 r. ż.

Objawy kliniczne:

- zapalenie cewki moczowej – głównie u mężczyzn, ropna wydzielina z cewki, może dojść do zapalenia najądrza, gruczołu krokowego,
- zapalenie szyjki macicy – zaburzenia oddawania moczu, bolesne stosunki płciowe, może się rozwinąć stan zapalny miednicy, ból w podbrzuszu, powikłaniem jest zapalenie jajników, otrzewnej, miednicy, powikłaniami przewlekłego zapalenia może być ciąża pozamaciczna lub bezpłodność,
- noworodkowe zapalenie gałki ocznej – zapalenie spojówek noworodków, może prowadzić do ślepoty, zakażenie podczas porodu,
- rzeżączka gardła – po stosunkach oralnych, przebieg bezobjawowy,
- zapalenie torebki wątroby – ból w prawym podżebrzu młodych zwykle kobiet,
- rozsiane zakażenie – w 80% przypadków następstwo miejscowego zakażenia bezobjawowego; czynniki predysponujące: miesiączka, ciąża; towarzyszą ropne zapalenie stawów, zmiany skórne; powikłania: zapalenie wsierdzia, opon m-r i szpiku.

Identyfikacja:

- barwienie metodą Gramma – wydzielina z cewki moczowej i szyjki macicy,
- bezpośrednia immunofluorescencja i techniki hybrydyzacyjne – swoiste, nie wymagają żywych bakterii,
- hodowla i izolacja – do określenia wrażliwości na antybiotyki,
- posiew krwi – przy rozsianym zapaleniu gonokokowym,
- materiał z innych miejsc i tkanek- w zależności od objawów.

Leczenie:

Leczenie skojarzone w przypadku nie powikłanego zapalenia narządów płciowych antybiotykami: ceftriakson (oporny na β -laktamazę, domięśniowo), cefiksym, fluorochinolony, spektynomycyna. W przypadku rozsianego zakażenia gonokokami niezbędna jest hospitalizacja, podaje się parenteralnie ceftriakson, a po wypisaniu amoksycylinę, cefiksym lub ciprofloksacynę.

G(-) PAŁECZKI – PAŁECZKI JELITOWE (ENTEROBACTERIACEAE)

Większość stanowi niechorobotwórcze bakterie, które występują w dużych ilościach w jelicie grubym, ale także na skórze, ustnej części gardła i wodzie. Większość to drobnoustroje oportunistyczne, zakażające tylko osoby osłabione.

Są to bakterie niesporujące, względnie beztlenowe, rosną na prostych podłożach, fermentują glukozę i wytwarzają kwas, są okolorzone i ruchome, mają otoczkę.

Bakterie klasyfikowane jako Enterobacteriaceae mają podobne cechy strukturalne, genetyczne i antygenowe. Często wymieniają informacje genetyczną przez koniugację, wymianę plazmidów, transdukcję. Przyczynia się to do wymiany oporności na wiele leków, nabywania genów do syntezy toksyn i czynników kolonizacyjnych.

Główne antygeny determinujące chorobotwórczość to: antygen K (otoczkowy), antygen H (rzęskowy – serotypowanie Salmonelli), antygen O (somatyczny – LPS).

Czynniki zjadliwości:

- Endotoksyna (LPS) – rdzeń lipopolisacharydowy, antygen O, lipid A; toksyczność zależy od struktury lipidu A.
- Egzotoksyna – jako enterotoksyny (*E. coli*), toksyna Shiga, werotoksyna.

- Czynniki adhezyjne – fimbrie, antygeny O, zewnętrzne białka błonowe, czynniki kolonizacji CFA (swoiste antygeny rzęskowe biorące udział w kolonizacji jelit), antygen rzęskowy P (*E. coli* powodująca odmiedniczkowe zapalenie jelit).
- Otoczka – znaczenie antyfagocytarne.

57. *Escherichia coli* – pałeczka okrężnicy

Występuje w dużych ilościach w jelicie grubym, jako flora fizjologiczna. Czynniki determinującymi chorobotwórczość są:

- Czynniki adhezyjne – umożliwiają kolonizację nabłonka dróg moczowych i przewodu pokarmowego. W dolnych drogach oddechowych występują z antygenem O (pęcherz), a w górnych z antygenem fimbrialnym P (kielichy nerkowe).
- Enterotoksyny – powodują zaburzenia żołądkowo-jelitowe.
- Enterotoksykogenne szczepy ETEC
- ➔ Toksyna ciepłochwiejna (LT) – (wrażliwa na działanie podwyższonej temperatury) – egzotoksyna białkowa należąca do tzw. toksyn A-B, które charakterystycznie zbudowane są z podjednostki B (lub kilku podjednostek B – zwykle pięciu w holotoksynach) wiążących cząsteczkę toksyny ze swoistym receptorem (dla LT receptorem jest gangliozyd GM₁ obecny na rąbku szczoteczki enterocytów) oraz podjednostki enzymatycznej A, która stanowi właściwą toksynę. Podjednostka A wnika do wnętrza komórki i aktywuje cyklazę adenylową, co prowadzi do wzrostu stężenia wewnątrzkomórkowego cAMP. cAMP aktywuje cAMP- zależną kinazę białkową, która fosforyluje białka komórki i bierze udział w transporcie jonów. Wzrost stężenia cAMP jest bezpośrednią przyczyną zaburzenia działania pompy jonowej komórki: sodowo-chlorkowej. Dochodzi do nadmiernego wydzielania z komórki wody i jonów chlorkowych oraz zahamowania wchłaniania zwrotnego jonów sodowych i wody. W wyniku tego w jelicie gromadzi się nadmierna ilość wody, która nie jest wchłaniana, co wzmaga perystaltykę jelita, prowadzi do rozwoju biegunki sekrecyjnej i odwodnienia tkanek. Toksyny LT *E. coli* oraz toksyna choleryczna CT działają w taki sam sposób.
- ➔ Toksyna ciepłostała (ST) – (nie jest wrażliwa na działanie podwyższonej temperatury) – jest egzotoksyną polipeptydową, która działa w sposób podobny do LT, z tym, że aktywuje ona w komórce cyklazę guanylową, co prowadzi do wzrostu stężenia wewnątrz komórki cGMP. Większość pozostałych enterotoksyn ciepłostałych działa w podobny sposób.
- Enterokrwtoczne (wytwarzające werotoksynę) EHEC – najbardziej chorobotwórcze dla układu moczowego szczepy wydzielają hemolizyny. Otoczką antyfagocytną – szczep K1 wywołuje 80% zapaleń opon m-r u noworodków, otoczką K1 zbudowana jest z kwasu sjałowego, który nie aktywuje dopełniacza. Zjadliwe szczepy przeważnie powodują zapalenie żołądka i jelit, dróg moczowych i opon m-r u noworodków. Rzadko wywołują posocznice, zakażenia szpitalne czy zapalenia płuc.

Wirotypy związane z zakażeniami układu pokarmowego:

- a) ETEC – enterotoksynogenne szczepy *E. coli* pod względem patomechanizmu zakażenia przypominają *Vibrio cholerae*. Zakażenia przewodu pokarmowego wywołane przez ETEC (typu enteritis) mają kliniczną postać biegunek sekrecyjnych, najczęściej samoograniczających się, ustępujących bez leczenia. Z uwagi na często występujące zakażenia wywołane przez ETEC u osób podróżujących, biegunki o etiologii ETEC nazywane są biegunkami podróżnych. Zakażenie rozpoczyna się adhezją ETEC do błony śluzowej jelita cienkiego (bez cech inwazji) i syntezą enterotoksyn. Adhezyny wytwarzane przez ETEC nazywane są czynnikami kolonizacji lub CFA antygenami - są to fimbrie (np.: CFA/I, CFA/II), których synteza jest często związana z wytwarzaniem cytotoksyny – czynnika nekrotyzującego CNF. Enterotoksyny syntetyzowane przez ETEC to LT i / lub ST.
- b) EAEC (lub inny akronim EA_ggEC) – enteroagregacyjne szczepy *E. coli* odpowiedzialne są za przewlekłe biegunki trwające od 2 tygodni do kilku miesięcy a dotyczące najczęściej niemowląt i dzieci. Charakterystyczną cechą zakażeń wywołanych przez EAEC jest obecność w próbkach kału dużych ilości śluzu a często także krwi oraz ich przewlekły charakter. Podobnie jak w przypadku ETEC, grupa tych szczepów *E. coli* adhezuje do błony śluzowej jelita cienkiego (bez cech inwazji), jednak w przeciwieństwie do ETEC sposób przylegania EAEC jest bardzo charakterystyczny, co stało się podstawą ich rozpoznawania (w teście adhezji *in vitro*). EAEC adhezuje do komórek nabłonka za pośrednictwem fimbrii agregacyjnych AAF w postaci skupisk przypominających „stopy cegieł.” Szczepy tej grupy mogą syntetyzować enterotoksynę ciepłostałą – EAST1, podobną do ST oraz cytotoksynę (hemolizynę) kontaktową, której działanie cytopatyczne ujawnia się w wyniku ścisłego kontaktu bakterii z komórką eukariotyczną. Ponadto opisano wśród EAEC szczepy syntetyzujące werotoksyny, cytotoksynę CDT oraz CNF.

- c) EPEC – enteropatogenne szczepy *E. coli*, najczęściej odpowiedzialne są za biegunki u niemowląt. Szczepy te, w początkowej fazie zakażenia luźno przyczepiają się do błony śluzowej jelita cienkiego za pośrednictwem fimbrii tworzących charakterystyczne wiązki tzw. BFP fimbrii. Dalsza ścisła adhezja EPEC, uwarunkowana obecnością białka adhezyjnego błony zewnętrznej – intiminy, związana jest z drastycznymi zmianami w obrębie cytoszkieletu enterocytów, zaburzeniem ich morfologii i funkcji, co jest bezpośrednią przyczyną biegunki. Szczepy EPEC wykazują słabe zdolności inwazji enterocytów, co prowadzi do rozwoju w obrębie jelita odczynu zapalnego. Chociaż ta grupa chorobotwórczych *E. coli* nie syntetyzuje żadnej charakterystycznej toksyny, EPEC mogą nabywać geny kodujące LT, ST, EAST1, shiga – like toksyny i hemolizyny.
- d) EHEC – enterokrwtocenne szczepy *E. coli*, których klasycznym przedstawicielem jest serotyp *E. coli* O157:H7 adherują do błony śluzowej jelita grubego w sposób podobny do EPEC (różnica dotyczy miejsca kolonizacji: EPEC – jelito cienkie, EHEC – jelito grube). EHEC syntetyzują cytotoksyny, które budową i mechanizmem działania przypominają toksynę shiga (wytwarzana przez *Shigella dysenteriae* typ1) i stąd są nazywane shiga – like toksynami (SLT1 i SLT2) lub werotoksynami (SLT1=VT1; SLT2=VT2) z uwagi na charakterystyczny efekt cytopatyczny jaki toksyny te wywołują na linii komórek nerki mały zielony – Vero hodowanej *in vitro*. Poza SLT toksynami EHEC mogą wytwarzać enterohemolizynę o cechach cytotoksyny. Szczepy EHEC związane są z krwawymi biegunkami i krwotocznym zapaleniem jelita grubego, którego częstym powikłaniem jest hemolityczny zespół mocznicowy i / lub małopłytkowa płamica zakrzepowa.
- e) EIEC – enteroinwazyjne szczepy *E. coli* wywołują zakażenia klinicznie przypominające czerwonkę bakteryjną, aktywnie inwaduując do komórek nabłonka okrężnicy, co prowadzi do powstania owrzodzenia błony śluzowej i biegunki. Enteroinwazyjne szczepy *E. coli* nie rozkładają laktozy, jak również nie wykazują ruchu (brak rzęsek).

- Zakażenia układu moczowego – u kobiet z nie powikłanymi zakażeniami dolnych dróg moczowych.
- Zapalenie opon m-r u noworodków – *E. coli* jest jednym z 2 najważniejszych czynników etiologicznych (drugi to paciorkowce z gr. B), które mogą być nabyte podczas lub po porodzie.
- *E. coli* jest przekazywana z człowieka na człowieka na drodze fekalno – oralnej, w przypadku zakażeń układu moczowego źródło jest przeważnie endogenne, bakterie przenoszą się z okolic kroczka.

Diagnostyka:

W większości przypadków objawy są tak oczywiste, że nie jest potrzebna diagnostyka laboratoryjna. Do hodowli używa się następujących materiałów:

- kał: od pacjenta z zapaleniem żołądkowo-jelitowym,
- fragment zakażonej tkanki – gdy mamy miejscową inwazję bakterii,
- krew – w przypadku bakteremii i posocznicy,
- mocz – przy zakażeniu dróg moczowych

Leczenie:

- nawodnieniu płynami o dużej zawartości elektrolitów w przypadku wodnistych biegunek,
- antybiotyki – penicyliny szerokowachlarzowe (ampicylina, amoksycylina, piperacylina); cefalosporyny I-IV generacji, monobaktamy, karbapenemy

58. Shigella

Są to bakterie nieruchome, nie fermentują laktozy na McConkey, nie wytwarzają H_2S . Gatunki podzielono na grupy (ze względu na różnice w antygenach somatycznych O) od A do D. Chociaż wszystkie gatunki mają wspólne właściwości inwazyjne i powodują martwice komórek błony śluzowej, to wydzielanie toksyny czerwonkowej (Shiga) jest ograniczone do *S. dysenteriae* typu 1, który powoduje większość groźnych zakażeń.

Pozostałe czynniki zjadliwości to:

- antygeny kodowane przez plazmidy – udział w przyleganiu i penetracji, warunkują ucieczkę z pęcherzyków fagocytarnych,
- białka związane z szerzeniem się wewnątrzkomórkowym – umożliwiają przyleganie do cytoszkieletu i przechodzenie pomiędzy komórkami przez wypustki błon,
- toksyna Shiga (ShT) – hamuje syntezę białek poprzez podjednostkę 60S rybosomów.

Enterotoksyny ShET1 i ShET2

Pałeczki te należą do wysoce zakaźnych – dawka zakaźna dla człowieka wynosi 100 – 200 komórek bakteryjnych. Mała dawka zakaźna pałeczek *Shigella* w dużej mierze jest spowodowana faktem, że bakterie te nie giną w kwaśnej treści żołądka i osiagają jelito, gdzie kolonizują dystalny odcinek jelita cienkiego i okrężnicy. *Shigelle* należą do drobnoustrojów inwazyjnych, zdolnych do namnażania się wewnątrzkomórkowo, co

prowadzi do powstania w jelicie grubym owrzodzeń i rozwoju odczynu zapalnego – stąd w próbkach kału osób zakażonych stwierdza się obecność krwi i leukocytów. Objawy kliniczne to silne kurczowe bóle brzucha, częste, bolesne oddawanie małych ilości stolca zawierającego krew i śluz.

W nielicznych przypadkach (3 – 50% w zależności od wirulencji szczepu) szczególnie u niemowląt, na skutek absorpcji z jelita do krwiobiegu LPS *Shigella* spp. i / lub egzotoksyn, zakażenie przybiera formę uogólnioną (śpiączka, drgawki, hemolityczny zespół mocznicowy – przypisywany aktywności toksyny Shiga, doprowadza do DIC, wykrzepiania, hemolizy i niewydolności nerek).

Shigella jest ludzkim czynnikiem chorobotwórczym, przenosi się drogą fekalno-oralną, przez skażony pokarm i wodę lub przez kontakt bezpośredni.

Diagnostyka: materiałem jest kał i wymazy odbytnicze z owrzodzonej śluzówki.

Leczenie: z reguły czerwonka bakteryjna jest zakażeniem samoograniczającym się, ustępującym bez leczenia. Występuje leczenie objawowe za pomocą płynów. Antybiotyki aktywne wobec *Shigella* to kotrimoksazol – najczęściej stosowany, chinolony i ampicylina (szczepu odporne).

59. Salmonella

Pałeczka nie fermentuje laktozy na podłożu McConkeya, fermentuje glukozę, wydziela H₂S. Główne gatunki to *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*.

Czynniki determinujące chorobotwórczość to:

- Endotoksyna – antygen O z LPS ściany komórkowej.
- Inwazyjność – białka warunkujące przyleganie i inwazję do komórek nabłonkowych jelit.
- Czynniki umożliwiające przeżycie wewnątrz komórek fagocytycznych: katalaza, dysmutaza nadtlenkowa neutralizują aktywne rodniki tlenowe; czynniki neutralizujące defenzyny (małe białka kationowe, które ułatwiają zabijanie bakterii przez fagolizosomy).
- Czynniki odporności na kwaśne pH – umożliwiają przeżycie w żołądku i fagolizosomach.
- Antygen Vi – otoczkowy polisacharyd *S. typhi* o właściwościach antyfagocytycznych.

Wrotami zakażenia jest nabłonek jelita cienkiego, tylko *S. typhi* jest inwazyjna dla całego organizmu. Penetracja błony śluzowej jest zależna od inwazyjności, powoduje ostre zapalenie i owrzodzenie jelita. Zapalenie błony śluzowej indukuje syntezę prostaglandyn, prowadzi do utraty płynów i elektrolitów.

- Zapalenie jelita cienkiego i grubego = salmonelloza

Jest najczęściej wywołana przez bakterie chorobotwórcze dla zwierząt, które łatwo się przenoszą na ludzkie skażone pożywienie, szczególnie drób i jaja. Zakażenia serotypami *S. enteritidis* i *S. typhimurium* należą do zakażeń inwazyjnych, w których proces adhezji pałeczek salmonella do komórek nabłonka połączony jest z tzw. efektem „wzburzenia błony plazmatycznej enterocytów”, co prowadzi do internalizacji bakterii do wnętrza komórki. Jest to proces związany ze zmianami w cytoszkielecie enterocytów a przypominający fagocytozę. W procesie internalizacji, inwazyjności do komórek oraz unikaniu strawienia wewnątrz wodniczek fagocytycznych, biorą udział liczne białka błony zewnętrznej salmonelli. Chociaż większość zakażeń wywołanych przez salmonelle ma łagodny charakter (klinicznie objawiający się jako gastroenteritis i nie wymagający leczenia), z uwagi na zdolności inwazyjne tych patogenów zakażenie może przybierać formę uogólnioną (przedostanie się salmonelli do krwiobiegu). Charakterystyczne objawy to biegunka, gorączka, ból brzucha. Pojawiają się po ok. 24 h inkubacji i zwykle same ustępują po 2-5 dni. Powikłaniem mogą być odwodnienie i zaburzenia elektrolitowe. Posiewy krwi zwykle są ujemne, natomiast posiewy kału są dodatnie. Leki z wyboru: ampicylina, ciprofloksacyna lub chloramfenikol).

- Dur brzuszny i paradury

Do zakażenia serotypami *Salmonella* odpowiedzialnymi za dury i paradury dochodzi drogą pokarmową. Okres inkubacji tych zakażeń jest dłuższy niż w przypadku salmonelloz i waha się od 1 tygodnia do miesiąca. W pierwszym okresie choroby salmonelle inwadują komórki M błony śluzowej jelita cienkiego, gdzie są fagocytowane przez leukocyty wielojądrowe, ale dzięki zdolności przeżywania w ich wnętrzu dostają się do krwiobiegu (okres inwazyjny zakażenia). Z krwią pałeczki rozprzestrzeniają się po całym organizmie chętnie osiedlając się w obrębie śledziony i wątroby, gdzie intensywnie się mnożą i ponownie wysiewają do krwi. Okres ten trwa ok. 2 – 3 tygodni i jest związany z charakterystycznymi objawami klinicznymi zakażenia: wysoką gorączką i wysypką durową. Za te kliniczne objawy zakażenia w głównej mierze odpowiada specyficzny dla serotypów *Salmonella* LPS stymulujący uwalnianie cytokin prozapalnych. Mnożąc się w obrębie wątroby salmonelle dostają się do żółci a z nią z powrotem do jelita, gdzie mnożą się w grudkach chłonnych prowadząc w ciężkich przypadkach do owrzodzenia błony śluzowej jelita. U ozdrowieńców (osób, które przeżyły dur brzuszny) często rozwija się stan nosicielstwa spowodowany utrzymywaniem się pałeczek w woreczku żółciowym.

W diagnozowaniu duru i paradržów bardzo waŹne jest pobranie materiału do badań (izolacji drobnoustroju), którego dobór podyktowany jest okresem zakaŹenia. W pierwszym okresie zakaŹenia - fazie inwazji i rozprzestrzeniania się salmonelli w ustroju drogą krwi – krew jest jedynym materiałem, z którego moŹna je izolować. Dopiero w 2 – 3 tygodniu zakaŹenia, gdy salmonelle są ponownie, masowo wydalane z Źółcią do jelita, moŹna je izolować z próbek kału.

Obecnořć salmonelli w krwiobiegu stymuluje synteze swoistych przeciwciał aglutynujących, skierowanych przeciw antygenom powierzchniowym – somatycznemu O i rzęskowemu H. Przeciwciała te pojawiają się w surowicy w okresie 3 – 4 tygodnia od początku zakaŹenia, osiągając wysokie miana, których poziom stopniowo obniŹa się w miarę zdrowienia. Przeciwciała aglutynujące moŹna wykrywać w surowicy odczynem aglutynacji probówkowej Widala. Odczyn Widala ma znaczenia diagnostyczne jedynie wtedy, gdy poziom przeciwciał dla antygenów O i H zostanie oznaczony dwukrotnie: w fazie klinicznych objawów zakaŹenia i ponownie w okresie zdrowienia. Wykazanie wzrostu miana przeciwciał Źwiadczy o przebytych zakaŹeniu.

Z uwagi na ogólnoustrojowy charakter durów i paradržów, zakaŹenia te są leczone – antybiotyki stosowane do leczenia duru lub paradržu to: ampicylina, kotrimoksazol lub ciprofloksacyna.

60. Klebsiella

Bakterie oportunistyczne wchodzą w skład flory fizjologicznej, w pewnych warunkach mogą wywoływać groŹne, uogólnione zakaŹenia.

Zalicza się tu gatunki: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*.

Czynnikami determinującymi chorobotwórczość są:

- Otoczka – najwaŹniejszy czynnik Źiadliwořci, Źluzowa o antyfagocytarnych wlařciwořciach.
- Wymiana plazmidów z innymi bakteriami naleŹącymi do Enterobacteriaceae zapewnia:
 - opornořć na antybiotyki,
 - wydzielanie toksyn: podobne do ciepłochwiejnej LT i ciepłostałej ST toksyny *E. coli*,
 - Adhezyny typu fimbrii – ułatwiają przyleganie do komórek nabłonkowych gospodarza i inicjację procesu zapalnego

Źluzowa otoczka stanowi podstawę podziału na typy antygenowe K(1-80). Czynnikami sprawczymi zakaŹeń szpitalnych są najczęřciej serotypy K2, K3, K21, w zakaŹeniach układowo oddechowego biorą udział serotypy 1-6.

ZakaŹenia *K. pneumoniae* w szpitalu są endogenne., rezerwuarem jest skolonizowany przewód pokarmowy.

Nosicielstwo w jamie nosowo – gardłowej u chorych hospitalizowanych moŹe dochodzić do 20%.

Klebsiella moŹe powodować:

- ➔ zapalenie płuc – *K. pneumoniae* występuje u ok. 10% zdrowych ludzi w układzie oddechowym i kale, pojawia się gęsta, podbarwiona krwią, lepka plwocina,
- ➔ zakaŹenie układowo moczowego,
- ➔ posocznica – noworodki i alkoholicy,
- ➔ epidemiczna biegunka – alkoholicy,
- ➔ zakaŹenia ran,
- ➔ zakaŹenie dróg Źółciowych
- ➔ zapalenie opon m-r – noworodki
- *Klebsiella ozaenae* izoluje się z błon Źluzowych nosa chorych na ozenę – cuchnący, postępujący zanik błony Źluzowej.
- *Klebsiella rhinoscleromatis* izoluje się w przypadku twardzieli nosa – Źiarnicy niszczącej nos i gardło.

Leczenie: cefalosporyny II, III, IV generacji (są szczepy odporne na III – ESβL(+)), ureidopenicyliny, piperacylina, aminoglikozydy, fluorochinolony.

61. Proteus

Ta pałeczka jest szczególnie ruchliwa, wydziela ureazę, H₂S, deaminazę fenyloalaninową. Ma liczne i długie witki umiejscowione wokół komórki. Rosnąc w hodowli kolonie mają tendencje do rozpełzania się po płycie. Dzięki deaminazie moŹna odróżnić je od innych Enterobacteriaceae.

NaleŹą tu gatunki: *P. mirabilis* i *P. vulgaris*.

Proteus ma antygeny O, K i H.

- *Proteus mirabilis* – pałeczka odmieńca – wchodzi w skład flory fizjologicznej przewodu pokarmowego. Dzięki ureazie, która dostarcza niezbędnego do wzrostu azotu, proteazie, hemolizynie są doskonale przystosowane do bytowania w układzie moczowym. Mają zdolnořć alkalizacji moczu do pH = 8 oraz sprzyjają wytrącaniu się kamieni nerkowych. *Proteusa* izoluje się tez z zakaŹonych ran, moŹe powodować posocznice.

Antybiotyki aktywne wobec *Proteus*: penicyliny szerokowachlarzowe (ampicylina, amoksycylina, piperacylina), cefalosporyny I, II, III, IV generacji, monobaktamy, karbapenemy.

G(-) PAŁECZKI – PAŁECZKI NIEFERMENTUJĄCE

62. Pseudomonas

Zaliczane są tu: *P. aeruginosa*, *P. mallei*, *P. cepacia*.

Gatunki te powszechnie występują w wodzie i glebie. *Pseudomonas aeruginosa* czasem kolonizuje człowieka i jest głównym patogenem w tej grupie. Jest inwazyjny i toksyczny, stanowi istotny czynnik zakażeń szpitalnych. Są to G(-), oksydazo(+), ruchliwe, tlenowe, otoczkowe pałeczki, z których niektóre wytwarzają pigmenty rozpuszczalne w wodzie:

- Piocyjanina – zdolność katalizowania zależnego od NAD przejścia O₂ w rodniki ponadtlenkowe. Powoduje cytotoksyczność i niebiesko – zielone zabarwienie czasami widoczne w ropnych wydzielinach.
- Piowerdyna – barwi agar na zielono.
- Fluoresceina – pod wpływem UV powoduje zieloną fluorescencję.

Powszechnie występują w glebie, wodzie, roślinach i zwierzętach. Niewielka liczba *P. aeruginosa* często występuje w normalnej florze jelitowej i na skórze człowieka, zwykle jest obecny w środowisku wilgotnym w szpitalach. Kiedy kolonizuje zdrowych ludzi jest saprofitem. Powoduje choroby u osób z zaburzeniem odporności.

Czynniki determinujące chorobotwórczość:

- Otoczka algininowa – zbudowana z polimeru kwasu mannurowego i glukuronowego, szczepy takie mają wygląd połyskujący, śluzowaty. Otoczka umożliwia przeżycie w środowisku wodnym. Działa ona jako czynnik adhezyjny i antyfagocytarny.
- Pilina i adhezyny nie związane z fimbriami – udział we wstępnej kolonizacji tkanki nabłonkowej.
- Hemolizyny – mogą niszczyć surfaktant płucny i przyczyniać się do niedodmy.
- Proteazy – niszczą tkankę poprzez trawienie białka.
- Toksyny:

➤ LPS

- Egzotoksyna A – najważniejsza toksyna, działanie podobne do toksyny błoniczej, ma aktywność transferazy ADP-rybozylowej i inaktywuje czynnik wydłużający-2 (EF-2),
- Egzotoksyna S = egzoenzym S – rybozyluje przez ADP białka G komórek gospodarza, hamuje fagocyty
 - Oporność na antybiotyki – wynik względnej nieprzenikalności ściany komórkowej

Szczepy są wszechobecne i odporne na dezynfekcję, dlatego często wywołują zakażenia szpitalne. Pacjenci mogą zostać zakażeni przez: żywność, brudne ręce, płyny dożylnie. Najczęściej są zakażane osoby poparzone, chorzy na mukowiscydozę, po zabiegach w obrębie dróg moczowych.

Zakażenie może być zlokalizowane w obrębie uszkodzenia tkanki, ale może też rozwinąć się bakteremia.

Dochodzi do zakażenia pacjentów z poważną chorobą podstawową uszkadzającą układ odpornościowy oraz pacjentów z OIOM:

- Zakażenie ran oparzeniowych,
- zakażenie dróg oddechowych u chorych z mukowiscydozą,
- posocznica,
- poważne zakażenie gałki ocznej np. w skutek zanieczyszczenia kropli do oczu lub przy stosowaniu soczewek kontaktowych,
- zakażenia u chorych z ostrą białaczką,
- zapalenie płuc u pacjentów z OIT (długotrwała wentylacja),
- wewnątrzbrzuszne zakażenia chirurgiczne,
- zakażenia po przeszczepach narządów,
- ucho zewnętrzne tzw. „ucho pływaka”,
- pourazowe zapalenie opon m-r,
- prawostronne zapalenie wsierdzia – narkomani

Materiałem do badań są: Próbkę zmian skórnych, ropa, moczu, PMR, krew.

Leczenie: penicyliny anty-*Pseudomonas* (w 40% są szczepy odporne) – karbenicylina, tikarcylicyna; cefalosporyny III i IV generacji – cefoperazon, cefepim; aminoglikozydy (szczepy odporne ok. 20%); karbapenemy – imipenem, meropenem (także pojawiają się szczepy odporne).

63. Acinetobacter

Należy do niefermentujących pałeczek G(-). Jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie, występuje jako składnik flory fizjologicznej na skórze, błonach śluzowych dróg oddechowych oraz układu moczowo-płciowego (okolice wilgotne). Występuje także w środowisku szpitalnym.

Wywołuje zakażenia tylko u chorych z upośledzonym układem odporności. Najwięcej zakażeń szpitalnych wywołuje: *A. baumani* i *A. juni*.

Są odpowiedzialne za:

- zapalenie płuc u chorych zaintubowanych lub po tracheotomii,
- zapalenie otrzewnej,
- zapalenie opon m-r,
- zapalenie wsierdza,
- zapalenie dróg moczowych,
- zakażenia ran i skóry.

Bakterie można izolować z: krwi, płwociny, skóry, płynu opłucnowego, moczu.

Leczenie: cefalosporyny III i IV generacji; aminoglikozydy – netylmycyna, karbapenemy.

G(-) PAŁECZKI ZAKRZYWIONE

64. *Helicobacter*

Helicobacter pylori (HP, dawniej *Campylobacter pylori*) to G(-), względnie beztlenowa bakteria (do wzrostu wymaga CO₂) o spiralnym kształcie i wielkości od 0.5 do 3 μm. Bytuje na powierzchni błony śluzowej żołądka i dwunastnicy, rzadziej na błonie wyścielającej przełyk. Jest urzęsiona jednobiegunowo. Posiada 2 do 6 rzęsek, które ułatwiają jej poruszanie. *Helicobacter* posiada adhezyny umożliwiające jej adherencje do nabłonka oraz LPS, której działanie sprawia, że błona śluzowa staje się mniej oporna na czynniki szkodliwe.

H. pylori wytwarza w dużych ilościach ureazę – enzym katalizujący rozkład mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla. Amoniak powoduje neutralizację kwasu solnego w bezpośrednim otoczeniu bakterii, co ma podstawowe znaczenie dla przeżycia, a także skutecznego dostępu do błony śluzowej żołądka. Przed inaktywacją enzymu ureazy w kwaśnym środowisku chroni ją białko wstrząsu termicznego HSP. Katalaza ma za zadanie zapobiec fagocytozie, natomiast proteaza zmienia lepkość śluzu. Poza ureazą wydzielany jest szereg innych toksyn. Najważniejsza jest nazywana cytotoksyną wakuolizującą. Działanie toksyn uszkadza błonę śluzową uruchamiając miejscową reakcję zapalną z udziałem wielu składników układu odpornościowego organizmu

Zakażenie bakterią następuje na drodze pokarmowej (brudne ręce), sprzyja mu niedożywienie oraz niedobór witamin. Do infekcji dochodzi najczęściej we wczesnym dzieciństwie. W Polsce najprawdopodobniej zakażonych jest ponad 60% osób. *H. pylori* odpowiada za 80% przypadków choroby wrzodowej żołądka i 90% przypadków choroby wrzodowej dwunastnicy. Zakażenie tą bakterią może mieć też wpływ na rozwój nowotworów żołądka, zapalenia błony śluzowej żołądka oraz chłoniaka MALT. W ok. 80% przypadków nie ma wyraźnych objawów choroby, a poziomy gastryny oraz wydzielanie kwasu solnego przez błonę śluzową żołądka są prawidłowe. Przy długo utrzymującej się infekcji przewlekły stan zapalny może doprowadzić do zaniku błony śluzowej (zapalenia zanikowego). Nasilone zapalenie może powodować ubytki błony śluzowej nazywane nadżerkami lub nawet być przyczyną krwotoku (zapalenie krwotoczne).

Diagnostykę *H. pylori* możemy podzielić na:

- badania nieinwazyjne do których zaliczamy:
 - ureazowy test oddechowy – badanie polega na zastosowaniu doustnym płynu zawierającego mocznik znakowany izotopami węgla C¹³ lub C¹⁴; w wypadku istnienia zakażenia *Helicobacter pylori* dochodzi do rozłożenia znakowanego mocznika przez bakteryjną ureazę i powstaje znakowany izotopem węgla dwutlenek węgla, który jest wydalany z organizmu z powietrzem wydechowym,
 - testy immunologiczne – poziom przeciwciał IgG w surowicy,
 - badanie krwi oraz badanie kału
- badania inwazyjne z zastosowaniem endoskopii przewodu pokarmowego:
 - badania histopatologiczne wycinka błony śluzowej żołądka,
 - test biochemiczny z wycinkiem błony śluzowej żołądka,
 - badanie mikrobiologiczne (hodowla).

Najczęściej w leczeniu stosowana jest terapia potrójna: dwa antybiotyki (amoksycylina, klarytomycyna) i inhibitor pompy protonowej (np. omeprazol) lub antybiotyk, metronidazol i inhibitor pompy protonowej. Celem leczenia jest usunięcie zagnieżdżonej w błonie śluzowej żołądka bakterii czyli eradykacja. Eradykacja powoduje w wypadku choroby wrzodowej zapobieganie nawrotom choroby i w istocie trwałe wyleczenie chorego. Problemem leczenia zakażenia *H. pylori* jest reinfekcja, a także wzrastająca oporność tej bakterii na standardowo stosowane leki. W wypadku oporności zaleca się leczenie czterolekowe: sole bizmutu, metronidazol, tetracyclina oraz inhibitor pompy protonowej.

65. Campylobacter

Drobnoustroje rodzaju Campylobacter należą do względnie beztlenowych pałeczek G(-), ich charakterystyczną cechą jest zakrzywiony kształt i układanie się parami (po zabarwieniu metodą Grama przypominają skrzydła mewy). Do najczęściej spotykanych bakterii rodzaju Campylobacter należą Campylobacter jejuni i Campylobacter fetus. Za ich toksyczność odpowiada ciepłostąła toksyna, a same bakterie są odporne na niską temperaturę. Campylobacter to bakterie pochodzenia zwierzęcego, występuje jako naturalny składnik flory jelitowej np. drobiu i bydła, natomiast człowiek może roznosić je drogą fekalno-oralną.

- Campylobacter jejuni wywołuje ostre zapalenie żołądka i jelit, często o groźnym przebiegu, pozostawiające owrzodzenia. Objawy przypominają – szczególnie u dzieci – ostre zapalenie wyrostka robaczkowego. Okres upływający od momentu wniknięcia bakterii do przewodu pokarmowego do wystąpienia pierwszych objawów jest bardzo długi i wynosi często 2 do 4 dni. Do najczęściej obserwowanych objawów należą: gorączka, nudności, utrata łaknienia, złe samopoczucie, bóle brzucha, biegunka (zwykle około 10 luźnych stolców, w 50% przypadków krwawych), bóle mięśniowe, bóle głowy. Objawy takie trwają od 1 do 21 dni. Najczęściej jednak ustępują po upływie tygodnia. Liczne badania naukowe dowodzą ścisłego związku pomiędzy zakażeniem Campylobacter jejuni a występowaniem w czasie jego trwania zespołu Guillaina-Barrégo. Jest to ostre wielokorzeniowe zapalenie demielinizacyjne ze współistniejącą aksonalną neuropatią ruchową.
- Campylobacter fetus stosunkowo rzadko wywołuje zakażenie żołądka i jelit, częściej powodując uogólnione, gorączkowe zakażenia u pacjentów w złym stanie ogólnym (osoby starsze, cukrzycy, osoby z nowotworem złośliwym, marskością wątroby).

Rozpoznanie potwierdza preparat barwiony metodą Grama oraz posiew próbek kału. Wykrycie krwi lub neutrofilów w kale wskazuje zajęcie ściany jelita, z czym łączy się poważniejszy przebieg.

Leczenie: głównie erytromycyna i tetracykliny

66. Legionella

Legionella to rodzaj G(-) pałeczki, obejmujący gatunki wywołujące legionellozę (chorobę legionistów, gorączkę Pontiac). Posiadają polarnie umieszczone wici w liczbie od 1 do 3 oraz specyficzne wymagania wzrostowe (L-cysteina i niektóre kwasy tłuszczowe, Fe, Zn, Mg). Ich naturalnym rezerwuarem są wody śródlądowe i morskie, licznie występują również w glebie i gorących źródłach wody. Mogą kolonizować także wodne urządzenia kąpielowe, szpitalne inhalatory, klimatyzatory i turbiny dentystyczne.

Drogi oddechowe – zakażenie następuje poprzez inhalację aerozolu lub zachłyśnięcie się zakażoną wodą. U chorego bakterie z rodzaju Legionella wydalane są z płwociną, zaś antygen z moczem. Nie stwierdzono dotychczas zakażenia się człowieka od chorych ludzi. Epidemie zachorowań występują w związku z zakażeniem się wielu osób z tego samego źródła (predysponuje uogólniony spadek odporności a także miejscowej obronności płuc np. przez palenie tytoniu).

Bakterie z rodzaju Legionella są wewnątrzkomórkowymi pasożytami pierwotniaków. Mogą również powodować nietypowe zapalenie płuc u ludzi, jak i gorączkę Pontiac. Szczególnie niebezpieczne dla człowieka są bakterie należące do gatunku Legionella pneumophila. Maja one powinowactwo do makrofagów i komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych. Dostają się one do płuc w mikroaerozolach powstających np. w kabinach prysznicowych. Postaci płucnej legionellozy towarzyszy suchy kaszel, zaburzenia w oddychaniu, temperatura powyżej 40°C, zaburzenia świadomości a często także wodnista biegunka. Śmiertelność wynosi 10-20%.

Gorączka Pontiac ma postać pseudogrypową bez zajęcia płuc. Ustępuje samoistnie, a rokowania są dobre.

Czynniki chorobotwórcze: L. pneumophila jest względnie wewnątrzkomórkowym drobnoustrojem, najlepiej poznane czynniki zjadliwości umożliwiające przeżycie i rozmnażanie wewnątrz komórek fagocytarnych to:

- adhezja – białka błony zewnętrznej pośredniczą w adhezji i penetracji do makrofagów,
- czynniki warunkujące zdolność do przeżycia wewnątrzkomórkowego:
 - toksyna białkowa – hamująca „wybuch” tlenowy makrofaga,
 - katalaza – rozkłada resztki nadtlenu wodoru, wydzielanego podczas osłabionego „wybuchu” tlenowego,
- hamowanie odpowiedzi komórkowej – Legionella ma zdolność do obniżania odporności komórkowej np. zahamowanie układu MHC-I i MHC-II w fagosomach zakażonych makrofagów.
- wytwarzanie toksyn.

Diagnostyka:

- badanie mikroskopowe – polega na wysrebrzaniu lub immunofluorescencji bezpośredniej,
- hodowla i izolacja – niezwykle trudna,
- testy serologiczne.

Leczenie: penicylina jest nieskuteczna ze względu na obecność β-laktamazy. Lekiem z wyboru są antybiotyki makrolidowe, w razie nietolerancji można stosować doksycyklinę.

BAKTERIE SPIRALNE

67. *Treponema pallidum*

- a) charakterystyka ogólna:
długie, cienkie, przypominające korkociąg bakterie szerokości od 0.1 – 0.3 um, zawierają włókna odpowiedzialne za ruchy rotacyjne i zgięciowe związane z poruszaniem się; są bakteriami G(-), niektóre są trudne do wybarwienia
- b) drogi przenoszenia:
Treponema pallidum przenosi się przez bezpośredni kontakt lub przez łożysko. Zagrożeni również są pracownicy laboratoriów, personel kliniczny i biorcy krwi.
- c) patogenezę:
Treponema pallidum dostaje się z miejsca zakażenia (zwykle na skórze) do drenujących tę okolice węzłów chłonnych w ciągu 30 min, z nich dostaje się do krwiobiegu gdzie wiąże się z białkami powierzchniowymi komórek, szczególnie śródbłonna. Zapalenie błony wewnętrznej naczyń jest głównym mechanizmem uszkadzającym w kile, który poprzez stan zapalny może prowadzić do martwicy tkanek.
- d) objawy kliniczne:
 - kiła dorosłych
 - pierwotna – w ciągu 3 lub 4 tygodni po zakażeniu w miejscu wnikięcia tworzy się zmiana pierwotna (twarda niebolesna ograniczona wrzodziejąca) zawierająca dużą liczbę krętków; zmiana pierwotna zanika samoistnie po około 14 dniach
 - II-rzędowa
 - ➔ pojawia się samoistnie po 3 – 8 tygodniach od zniknięcia zmiany pierwotnej
 - ➔ charakteryzuje się występowaniem objawów ogólnych świadczących o rozsiewie zakażenia: złe samopoczucie, lekka gorączka, powiększenie węzłów chłonnych, łysienie plackowate, wysypka na skórze i błonach śluzowych
 - okres utajenia – wczesny lub późny; wykonane u pacjentów testy serologiczne są dodatnie ale pacjenci nie mają objawów choroby
 - III-rzędowa – degeneracyjne i nieodwracalne zmiany martwicze które nie zawierają krętków; skutkami mogą być zapalenie aorty prowadzące do tętniaka, utrata wzroku, otępienie umysłowe, zaburzenia mięśniowo – kostne w następstwie zaburzeń neurologicznych
 - kiła wrodzona – od 16-tego tygodnia ciąży może przechodzić przez barierę łożyskową; 25 % płodów umiera w macicy, a następne 25% zaraz po porodzie; większość przeżywających dzieci rodzi się z poważnymi wadami rozwojowymi takimi jak: opóźnienie wzrostu wewnątrzmacicznego, wyciek surowicy z nosa, powiększenie wątroby i śledziony oraz węzłów chłonnych; występują zaburzenia w budowie kośćca i twarzoczaszki; u 75% nie leczonych dzieci występuje co najmniej jeden element składający się na triadę Hutchinsona (pokarbowane zęby, śródmiąższowe zapalenie rogówki, głuchota)
- e) kiła dzieci – kiła wrodzona – rozpoznanie prenatalne jest ustalane na podstawie wykrycia zakażenia u matki; potwierdzenie rozpoznania u dziecka wymaga wykazania obecności *T. pallidum* w zmianach skórnych lub w PMR lub wykrycia swoistych przeciwciał IgM za pomocą odczynów serologicznych
- f) lekiem z wyboru jest penicylina

68. *Borrelia*

- *Borrelia recurrentis*
- a) charakterystyka ogólna:
Średnica wynosi 0.3 – 0.5 um, a długość 20-30 um. Barwią się barwnikiem anilinowym (Wrighta lub Giemzy). Łatwo widoczne w mikroskopie świetlnym po zabarwieniu, łatwe do hodowli na specjalnych podłożach sztucznych, mikroaerofilny.
 - b) *Borrelia* jest drobnoustrojem pochodzenia zwierzęcego przenoszona przez kleszcze i wszy.
 - c) *B. recurrentis* powoduje dur powrotny, tj. bakteremię połączoną z gorączką, której nazwa jest związana z występowaniem często 3 – 10 nawrotów. *Borrelia recurrentis* atakuje wiele narządów – śledzionę, wątrobę, opony m-r, przewód pokarmowy i nerki. Jest zdolna do zmienności antygenowej i modulacji antygenowej. Namnażanie się nowego zmutowanego szczepu powoduje nawrót, który znowu jest zahamowany przez specyficzną odpowiedź immunologiczną i gorączka ustępuje. Kolejne nawroty są związane z powstawaniem różnych antygenowo szczepów.
Objawy: Choroba ma nagły początek i gwałtownie zwiększająca się temperatura po okresie inkubacji, która trwa 3 – 10 dni. Drugi atak choroby może wystąpić po 4-10 dniach, z takimi objawami jak dreszcze, gorączka, silne bóle głowy.

- d) Diagnostyka laboratoryjna: Badanie rozmazu krwi. Mikroskop ciemnego pola lub barwienie metodą Wrighta lub Giemzy może pozwolić na wykrycie krętków we wczesnych etapach choroby, poza tym diagnostyka opiera się na hodowli krwi i testach serologicznych.
 - e) leczenie – pojedyncza wysoka dawka erytromycyny, tetracykliny lub penicyliny
- *Borrelia burgdorferi*
 - a) Ściana komórkowa zawiera toksyczny lipopolisacharyd i peptydoglikan o właściwościach pozapalnych. Uważa się że odpowiedź immunologiczna odgrywa główną rolę w patogenezie choroby.
 - b) *Borrelia burgdorferi* wywołuje boreliozę (choroba z Lyme) przenoszona przez kleszcze. Krętki są wydzielane ze śliną kleszczy. Rozpoznanie opiera się na objawach klinicznych.
 - c) Patogeneza: po czasie inkubacji (3 – 33 dni) w miejscu ugryzienia pojawia się zmiana skórna, krętki przemieszczają się na zewnątrz zmianami drogami chłonnymi. Mogą dotrzeć do krwiobiegu, i w konsekwencji dawać objawy ze strony układu nerwowego lub serca. Wyróżnia się 3 stadia choroby:
 - rumień wędrujący – pierścieniowa zmiana z jasnym lub martwiczym centrum i uniesionym czerwonym brzegiem pojawia się z miejsca ugryzienia przez kleszcze,
 - objawy neurologiczne (zapalenie opon mózgowych) i kardiologiczne (powiększenie serca),
 - zapalenie stawów

69. *Leptospira*

- a) charakterystyka ogólna:

Silnie zwinięte spirale, ruchliwe bakterie o średnicy 0.1 um i długości 6-20 um zakończone haczykiem, mogą rosnąć na wzbogaconych podłożach sztucznych, są względnie beztlenowe i najlepiej rozwijają się w temperaturze 30 stopni.
- b) środowisko życia:

Leptospira jest pasożytem zwierząt, najważniejszym rezerwuarem są szczury, natomiast człowiek jest gospodarzem końcowym, co oznacza, że krętek nie może przenosić się między ludźmi. Szczególnie narażeni są weterynarze i ludzie pracujący przy przygotowywaniu żywności (pakowacze mięsa).
- c) patogeneza:

Zakażenie przenosi się przez kontakt z zakażonymi zwierzętami lub środowiskiem (np. skażona moczem / wodą). Krętki wnikają przez nienaruszone błony śluzowe lub otarcia skóry, ale nigdy przez nienaruszoną skórę. Organizm wnika do krwiobiegu (krętkowica) i szerzy się do różnych narządów i tkanek. Może prowadzić do zajęcia wątroby i naczyń (rozlane uszkodzenie śródbłonna naczyń prowadzi do utraty płynów i wstrząsu hypowolemicznego, zapalenie naczyń prowadzi do DIC). Organizm może też zająć nerki i prowadzić do ich niewydolności.
- d) objawy:
 - Subkliniczna (bezobjawowa) leptospiroza jest wykrywana w badaniach serologicznych u pracowników rzeźni i weterynarzy. Badania wykazują przeciwciała u osób które nie wiedzą, że zostały zakażone.
 - Leptospiroza z żółtaczką (zespół Weila) jest najgroźniejszą postacią leptospirozy. Powoduje rozlane uszkodzenie śródbłonna i zapalenie naczyń, które w konsekwencji prowadzi do zaburzeń czynności nerek i wątroby, krwotoków wewnętrznych, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i wstrząsu. W 25% występuje powiększenie wątroby ze zwykle towarzyszącą żółtaczką.
- e) diagnostyka:
 - hodowla i izolacja: z krwi i PMR w pierwszym tygodniu choroby, potem z moczu,
 - testy serologiczne są wiarygodnym lecz nie pozwalają na szybkie ustalenie rozpoznania
- f) lekiem z wyboru jest penicylina, a uczulonych – tetracyklina

70. *Mycoplasma*

Mycoplasma to bakterie należące wraz z *Ureaplasma* do rodziny *Mycoplasmataceae*. Rodzina ta charakteryzuje się brakiem ściany komórkowej co powoduje że nie barwią się one wg Grama. Wymagają one do wzrostu szczególnych warunków. Kolonie mają wygląd sadzonego jaja.

Mycoplasma pneumoniae to bakteria powodująca zakażenia układu oddechowego u dzieci, młodzieży a także dorosłych. Człowiek jest jedynym gospodarzem dla tej bakterii. Zakażenia najczęściej spotyka się późnym latem i w jesieni. Jeśli bakteria dostanie się do oskrzeli, białko powierzchniowe pośredniczy w przyleganiu do kwasu sjałowego zawartego w oligosacharydach znajdujących się na powierzchni komórek rzęskowych co jest powodem śmierci komórek błony śluzowej. Pomimo właściwego leczenia drobnoustrój może być wydalany z kropelkami śluzu przez wiele tygodni lub miesięcy (14 tyg.).

Pozapłucne choroby to: zapalenie stawów (poprzez kompleksy immunologiczne), zajęcie OUN, zajęcie

układu sercowo-naczyniowego, zapalenie wątroby, zapalenie trzustki, zapalenie gałki ocznej, niedokrwistość hemolityczna (poprzez wytwarzanie zimnych aglutynin).

Objawy kliniczne: okres inkubacji trwa 15-25 dni, na początku objawy nie są charakterystyczne (gorączka, bóle głowy). Przy zakażeniach dróg oddechowych występują objawy zapalenia płuc, tchawicy i oskrzeli, gardła lub ucha środkowego (charakterystyczne dla *Mycoplasmy*). Zapalenia płuc nie są tak groźne jak zapalenia płuc wywołane przez inne bakterie, kaszel jest suchy.

W badaniu RTG widoczne są plamiste zaciemnienia zwykle jednostronne. W 20% wysięki do opłucnej. Diagnostyka odbywa się poprzez serologie oraz badanie poziomu przeciwciał.

Lekami z wyboru są tetracykliny i erytromycyna.

71. Ureaplasma

Ureaplasma urealyticum powoduje zakażenia układu moczowo-płciowego zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Najczęściej wiąże się z przypadkami nierzęzątkowego zapalenia cewki moczowej (NGU) i gorączki połogowej. Przenosi się głównie drogą kontaktów seksualnych, a także na noworodki podczas porodu z dróg rodnych matki. Obok objawów infekcji częste jest również nosicielstwo lub bezobjawowe zakażenia, co sprzyja rozprzestrzenianiu się patogenu. Objawy bywają podobne do tych, jakie występują przy innych zakażeniach bakteryjnych i najczęściej dotyczą cewki moczowej. U mężczyzn może dojść do zakażenia gruczołu krokowego, natomiast u kobiet może rozwinąć się zapalenie jajników. Powikłaniem nie leczonym zakażeń *Ureaplasma urealyticum* u kobiet mogą być powtarzające się poronienia. *U. urealyticum* można łatwo odróżnić od innych drobnoustrojów należących do *Mycoplasmataceae* na podstawie wydzielania ureazy. W leczeniu zalecane są tetracykliny i makrolidy, a fluorochinolony na szczepy odporne.

72. Chlamydia

Chlamydia wraz z *Rickettsia* uważane są za bezwzględne pasożyty wewnątrzkomórkowe.

Rodzaj *Chlamydia* składa się z trzech gatunków patogennych dla ludzi: *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*. Są to bakterie nie posiadające zdolności do syntetyzowania ATP; pozyskują ATP z komórki żywiciela, mogą natomiast syntetyzować swoje własne białka. Ściana komórkowa *Chlamydia* zawiera LPS, nie zawiera zaś peptydoglikan. Są bakteriami niewrażliwymi na β -laktamowe antybiotyki.

Charakterystyka mikrobiologiczna:

Chlamydie są szeroko rozpowszechnionymi w świecie przyrody drobnoustrojami, które posiadają zarówno cechy wirusów, jak i bakterii. Niewielkie rozmiary rzędu 0,2-1,3 μm , brak niektórych własnych mechanizmów wytwarzania energii metabolicznej oraz wyłącznie wewnątrzkomórkowy cykl rozwojowy, umożliwiające wykorzystanie wysokoenergetycznych produktów komórki gospodarza, stanowią cechy upodabniające te bakterie do wirusów. Z kolei podobna do G(-) bakterii budowa ściany komórkowej, rozmnażanie przez podział podwójny, a także wrażliwość na niektóre antybiotyki, to właściwości zbliżające je do bakterii. Wszystkie gatunki chlamydii mają wspólny antygen grupowy oraz ten sam cykl rozwojowy.

W cyklu rozwojowym bakterii z rodzaju *Chlamydia* wyróżnia się dwie morfologiczne formy:

- ciało elementarne EB o średnicy 0,2-0,4 μm . To małe ciało podstawowe jest zdolne do przeżycia poza komórką gospodarza. Jest nieaktywne metabolicznie. Przyczepia się do powierzchni komórek i jest fagocytowana.
- ciało siatkowate RB (początkowe) o średnicy 0,8-1,3 μm . Jest to forma aktywna metabolicznie, zdolna do reprodukcji, ale niezdolna do przeżycia poza komórką gospodarza. Powstaje w 5-6 godzin z ciała elementarnego po wnikięciu do komórki.
- ciało pośrednie jest wynikiem skupienia się ciałek siatkowatych, skupiska te są gotowe opuścić komórkę aby zakazić inne komórki, przy czym komórka ginie.

Cykl rozwojowy rozpoczyna się wówczas, kiedy ciało elementarne przyczepia się do komórki gospodarza na zasadzie wiązania elektrostatycznego, a następnie droga endocytozy przenika do jej wnętrza. W komórce gospodarza ciało elementarne pozostaje w otoczonej błoną fagosomie, co uniemożliwia połączenie fagosomu z lizosomem komórki gospodarza. Ciała elementarne różnicują się w kierunku ciałek siateczkowatych, które następnie dzielą się przez podział podwójny. Po 36 godz. cyklu RB przekształcają się w EB, a po upływie 48-72 godz. następuje uwalnianie ciałek elementarnych drogą cytolizy lub pęknięcia wtrętu bez uszkodzenia komórki gospodarza (endocytoza). Dojrzałe ciała elementarne, zdolne do bytowania pozakomórkowego stanowią źródło zakażenia kolejnych komórek gospodarza.

Czynniki determinujące chorobotwórczość:

Wszystkie *Chlamydie* są wysoce zakaźne, różnią się natomiast stopniem zjadliwości. Uważa się że ogromna rola w patogenności odgrywa zdolność do wewnątrzkomórkowego namnażania się i wytwarzania zarówno egzo- jak i endotoksyn. Uważa się że zdolność do przeżycia wewnątrzkomórkowego wiąże się ze zdolnością ciała siatkowatego do hamowania fuzji lizosomów z pęcherzykami fagocytarnymi, w którym ono przebywa.

- Chlamydia psittaci
 - patogen ptaków, kotów, owiec,
 - u ludzi (hodowców) wywołuje atypowe zapalenie płuc, a w powikłaniu zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
 - choroba ptasia – ornitoza (choroba papuzia): źródłem zakażenia są papugi, od których drogą kropelkową
 - objawy podobne do grypy, po 1-2 tyg. wyleganiu nagle pojawiają się objawy zapalenia płuc: ból głowy, jadłowstręt, kaszel, gorączka, czasami wysypka odro-podobna
 - epidemiologia: drogą zakażenia jest wdychanie unoszących się w powietrzu cząstek, rzadziej z człowieka na człowieka
 - leczenie: tetracykliny
- Chlamydia pneumoniae
 - odpowiedzialna za zapalenie płuc, oskrzeli, gardła,
 - nie ma znanych serotypów,
 - przenoszona z człowieka na człowieka
 - lekami z wyboru są tetracykliny
- Chlamydia trachomatis – jest obecnie uważana za najczęstszy czynnik etiologiczny chorób zakaźnych przenoszonych drogą płciową. Zakażenia dotyczą głównie ludzi młodych w wieku rozrodczym (między 15 a 25 r. ż.) pochodzących zwykle z niższych grup socjo-ekonomicznych i posiadających wielu partnerów seksualnych. Zakażenia nie leczone mogą prowadzić do poważnych powikłań.

Dokonano podziału na 15 serotypów:

 - serotypy A, B, B_A, C wywołują chorobę zwaną jaglicą, wtętowe zapalenie spojówek z lokalizacją na spojówkach dolnych, dochodzi do uszkodzenia rogówki i ślepoty
Jaglica (przewlekle pęcherzykowe zapalenie rogówki) jest chorobą wywoływana przez C. trachomatis. Rozpoczyna się ona nagle, przenosi się drogą bliskich kontaktów. Charakteryzuje się zapaleniem błony śluzowej i spojówki, które wyścielają powiekę i twardówkę. Może prowadzić do ślepoty.
 - serotypy D, E, F, G, H, I, J, K odpowiedzialne za zakażenia dróg płciowych, a także spojówek i płuc u noworodków,
 - serotypy L₁, L₂, L₃ wywołują ziarniaka wenerycznego
Ziarniak weneryczny jest choroba przenoszona drogą płciową. Choroba po okresie inkubacji bakterii (3 dni do 3 tygodni) przechodzi w objawy dzielące się na 3 okresy:
 - ➔ w pierwszym występuje mała samoistnie ustępująca zmiana w okolicy płciowej o charakterze grudkowo – pęcherzykowym, niekiedy wrzodziejaca, przebiegająca z objawami zapalenia cewki moczowej lub nawet bez dolegliwości,
 - ➔ drugi okres po 2-6 tygodni – powiększenie węzłów chłonnych, bolesne, w okolicach więzadła pachwinowego; przetoki tych węzłów mogą powodować tzw. dumienice ziarniakowe; mogą wystąpić objawy ogólne takie jak gorączka i brak apetytu,
 - ➔ trzeci okres rozwija się u osób nie leczonych; włóknienia i bliznowacenie powodują zwężenia cewki moczowej i odbytnicy; po roku przewody stają się niedrożne
 - ❖ Niegonokokowe zapalenie cewki moczowej – skąpa wydzielina z cewki, przejrzysta, mleczno-białą, surowicza lub śluzowa. Częstym powikłaniem jest zapalenie najądrzy, które może prowadzić do bezpłodności, oraz zespół Reitera charakteryzujący się występowaniem zapalenia stawów, spojówek lub jagodówki, którym towarzyszą zmiany śluzowo skórne pojawiające się w 1-4 tygodni po objawach zapalenia cewki.
 - ❖ Śluzowo-ropne zapalenie szyjki macicy jest typowym objawem zakażenia Chlamydia u kobiet. Charakteryzuje się śluzowo-ropnymi upławami, odczynem zapalnym szyjki i obecnością > 30 leukocytów w polu widzenia w rozmazie (podobny obraz również w innych zakażeniach np. N. gonorrhoeae, HSV). Częstymi powikłaniami mogą być zapalenia narządów miednicy małej tj. jajowodów i okolicznych tkanek. Zakażenia noworodków to wtętowe zapalenie spojówek i zapalenie płuc.

Epidemiologia:

Zakażenie szerzy się drogą płciową, przez bliski kontakt lub w czasie porodu. C. trachomatis jest najczęstszą przyczyną bakteryjnych chorób przenoszonych drogą płciową.

U kobiet ciężarnych chlamydie mogą być przyczyną: poronień, ciąży pozamacicznej, porodów przedwczesnych, zakażeń wewnątrzszpitalnych, zakażeń okołoporodowych płodu i noworodków.

Diagnostyka laboratoryjna

Izolacja i hodowla na komórkach McCoy jest wysoce czułą (70 – 90%) i swoistą (100%), ale czasochłonną metodą (wyniki uzyskuje się po 2-3 dniach). Po okresie inkubacji w celu wykrycia C. trachomatis stosuje się przeciwciała monoklonalne znakowane fluoresceiną. Barwienie jodyną pozwala na wykrycie w cytoplazmie

wtrętów zawierających glikogen, ale jest to metoda mniej czuła niż immunofluorescencja. Obecnie w badaniach diagnostycznych stosowane są:

- Immunofluorescencja bezpośrednia, która jest szybszą i łatwiejszą w wykonaniu metodą niż hodowla na komórkach McCoy. Przy użyciu znakowanych fluoresceiną przeciwciał monoklonalnych ciała podstawowe są wykrywane bezpośrednio w materiale pobranym od pacjentek. Czułość metody wynosi 70-100%, a swoistość 85-98%.
- Testy immunoenzymatyczne (enzyme linked immunoassay = ELISA) wykazują swoistość 67-98% w wykrywaniu zakażeń szyjki macicy. Czułość tej metody można zwiększyć z 85% do prawie 100% używając do potwierdzenia odczynów z przeciwciałami blokującymi.
- Metody molekularne, takie jak łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) i łańcuchowa reakcja ligazy (LCR) są wysoce czule (PCR 95-100%, LCR 93,8%) i swoiste (PCR 100%, LCR 99%), ale drogie i pracochłonne. Za pomocą LCR można wykryć śladowe ilości *C. trachomatis* również w moczu zakażonej kobiety.

Leczenie

- jaglica: sulfonamidy i tetracykliny (miejscowo i ogólnie),
 - niegonokokowe zapalenie cewki i śluzowo-ropne zapalenie szyjki macicy:
- niepotwierdzona etiologia: doksycyklina, erytromycyna (w ciąży),
- potwierdzona etiologia: doksycyklina

PIERWOTNIAKI

73. *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii (*Entamoeba histolytica*) jest wewnątrzkomórkowym pasożytem, wywołującym u ludzi toksoplazmozę. Występuje u wielu gatunków ptaków i ssaków, jego ostatecznym żywicielem są kotowate u których *Toxoplasma* rozmnaża się płciowo. Zarażenie kota zaczyna się wraz z połknięciem oocyst zawierających sporozycyty lub oocyst rzekomych zawierających bradyzoity. Obie te formy są postaciami zakaźnymi. W nabłonku kociego jelita przekształcają się w trofozoity, z których następnie drogą schizogonii powstają merozoity. Merozoity mogą powtarzać cykl w komórkach innych tkanek lub pozostając w nabłonku jelita przekształcić się w gamety, z połączenia których powstaje oocysta. Powstałe wówczas oocysty są wydalane z odchodami i zjadane przypadkowo przez inne zwierzęta, w tym gryzonie. Wtedy pasożyt tworzy cysty w różnych narządach, między innymi w układzie nerwowym. Cykl życiowy pasożyta zamyka się, gdy zakażone zwierzę (szczur lub mysz) zostanie zjedzone przez kota.

Do zarażenia człowieka może dojść przez zjedzenie brudnych warzyw, spożycie niedogotowanego lub surowego mięsa albo przez przeniesienie zakażenia z matki na płód przez łożysko. W obecnym stanie badań wynika, że główną przyczyną (70%) jest surowe lub niedogotowane mięso. Wstępnie badającym od 10 lat udało się ustalić, że po zamrożeniu go głęboko lub "gotowaniu" powyżej 20 minut w temp. 60 stopni Celsjusza pierwotniak zanika.

Toksoplazmozę dzielimy dwójako, ze względu na pochodzenie (wrodzona lub nabyta) i ze względu na objawy (objawowa lub utajona). U ok. 30% przypadków toksoplazmozy wrodzonej występuje charakterystyczna triada objawowa – wodogłowie, zwapnienie mózgu i zapalenie siatkówki z naczyniówką. Zwykle jednak u ludzi z prawidłową odpornością świeże zakażenie przebiega bezobjawowo. U prawie wszystkich osób zarażonych prenatalnie i nie leczonych po urodzeniu w ciągu kilku-kilkunastu lat rozwija się postać oczna toksoplazmozy. Objawami takiej postaci choroby jest podwójne widzenie, zwiększona wrażliwość na światło (czasami światłowstręt) oraz zaburzenia ostrości widzenia lub jego całkowita utrata. Cysty rzekome w organizmie człowieka mogą przetrwać wiele lat i uaktywnić się w stanie zmniejszonej odporności dając wtedy pełnoobjawową chorobę. Szczególnie narażone są miejsca dobrze ukrwione (OUN, naczyniówka oka etc.). Narażeni na komplikacje wynikające z zarażenia *T. gondii* są pacjenci z AIDS.

Można rozpoznać zakażenie wykonując badania serologiczne, sprawdzając poziomy przeciwciał IgM i IgG. W toksoplazmozie ocznej niezbędne jest oczywiście oglądanie dna oka. Potwierdzenie rozpoznania można uzyskać przez badanie mikroskopowe materiału biopsyjnego.

Zalecane leczenie polega na podawaniu pirymetaminy, sulfadiazyny i spiromycyny przez 3 do 4 tygodni razem z domięśniowym osłonowym podawaniem kwasu foliowego.

74. *Trichomonas vaginalis*

Rzęsistek pochwy jest pierwotniakiem z grupy wiciowców, pasożytuje w drogach moczowo-płciowych, zakażenia z jego udziałem są najczęściej objawowe, dotyczą w przeważającej mierze sromu i pochwy.

Morfologia: występuje jako trofozoit, ma pojedyncze jądro, nie wykształca cyst, ma dobrze rozwinięty aparat ruchu w postaci pięciu wici, z których jedna tworzy błonę falującą.

Rozmnaża się przez podział.

Występuje powszechnie, u ok. 10-25% kobiet, do zakażeń dochodzi drogą płciową, np. przez współżycie z zakażonym bezobjawowo partnerem. Możliwe jest również zarażenie pośrednie, przez używanie wspólnych ręczników, pościeli etc. ponieważ rzęsistek przeżywa w zaschniętych kroplach wydzieliny chorej osoby, a dzięki wiciom potrafi bardzo szybko kolonizować pochwę, macicę a nawet jajowody i pęcherz moczowy.

Jego miejscem bytowania jest u kobiet właśnie pochwa, kanał szyjki macicy i pęcherz moczowy, a u mężczyzny - cewka moczowa, gruczoł krokowy i pęcherzyki nasienne.

W trakcie zakażenia *Trichomonas vaginalis* żywi się komórkami gospodarza, co powoduje zaburzenia w stężeniach glikogenu i pH, co z kolei wpływa korzystnie na rozwój bakteremii (pH optymalne dla *T. vaginalis* jest wyższe niż 4,9).

Najczęściej zakażeniu towarzyszy ostry stan zapalny dróg moczowo-płciowych powodujący obfite, pieniste, cuchnące, zielonkawe upławy z dróg rodnych, a także ból i pieczenie, często świąd. W przypadku zakażenia dróg moczowych może wystąpić częstomocz, bolesne mikcje a także bóle w podbrzuszu.

T. vaginalis może w sposób bezobjawowy zasiedlić gruczoł krokowy mężczyzny i zarażać partnerkę seksualną poprzez nasienie. Może z równym powodzeniem bytować bardzo długi czas w pochwie kobiety, lecz taki stan utajenia może ulec zaostrzeniu.

Rozpoznanie choroby opiera się na objawach klinicznych i analizie preparatu mikroskopowego wykonanego z przygotowanego materiału (wydzielina pochwy, cewki moczowej, osad moczu).

Leczenie: Leczenie rzęsistkowicy polega na podawaniu doustnie pochodnych imidazolu: metronidazolu, tinidazolu, ornidazolu. Stosuje się terapię uderzeniową – lek jest podawany 1 – 3 – krotnie w ciągu doby. Ze względu na duże prawdopodobieństwo (prawie 100%) zarażenia partnera seksualnego, trzeba bezwzględnie przeprowadzić u niego leczenie. Jeśli kobieta bądź mężczyzna, u których wykryto zakażenie pierwotniakiem, mają kilku partnerów, należy ich wszystkich leczyć. Niezbędne jest przeprowadzenie badań kontrolnych po 3 tygodniach po zakończeniu kuracji.

75. *Lamblija intestinalis*

Ogoniastek jelitowy, wielkouściec jelitowy (*Lamblija intestinalis*, *Giardia lamblia*) jest wiciowcem, który jest główną przyczyną chorób pasożytniczych u dzieci, dotyka jednak w pewnym stopniu dorosłych.

Morfologia: Cechą charakterystyczną jest obecność podwójnych organelli (dwóch jąder komórkowych, dwóch aparatów parabazalnych, dwóch kompletów wici [w sumie cztery pary wici]), które są ułożone symetrycznie względem osi ciała. Każda z wici wychodzi z innego, oddzielnego kinetosomu. *Giardia* posiada ponadto specjalny dysk czepny (przyssawkę brzuszna), rodzaj przyssawki umożliwiający przyczepienie się do mikrokosmków jelita.

Wielkouściec rozmnaża się przez podział podłużny.

G. lamblia kolonizuje jelito cienkie, gdzie przysysa się do ściany i intensywnie mnoży, w świetle jelita powstają cysty które są następnie wydalane z kałem. W jednym wypróżnieniu może ich być wiele milionów.

Do zakażenia *lambliami* dochodzi w przypadku połknięcia cyst. Najczęściej zakażenie przebiega bezobjawowo. Objawy ostrego zakażenia występują po 1-3 tyg., są niejednoznaczne i zależne od wieku i stanu wydolności immunologicznego. U dorosłych występują nudności, brak apetytu, gwałtowne, wodniste, sfermentowane stolce, gazy, niewielka gorączka, wzdęcia, kurczowe bóle brzucha, niekiedy w okolicy pęcherzyka żółciowego, bóle głowy, zmęczenie, bezsenność, reakcje uczuleniowe z różnego rodzaju wysypką i stany podgorączkowe. U dzieci zwykle występuje wodnista biegunka.

Rozpoznanie stawiane jest na podstawie stwierdzenia obecności cyst w badaniu kału. W okresie ostrym jest ich dużo, ale wtedy najczęściej nie jest postawiona właściwa diagnoza na podstawie niejasnych dolegliwości. W okresie przewlekłym pojedyncze badanie może nie przynieść rezultatów, ponieważ cysty wydalane są okresowo i w różnych, czasem małych ilościach. Stosuje się również testy na obecność antygenów.

W leczeniu najczęściej stosuje się tynidazol, metronidazol i furazolidon.

76. *Pneumocystis carinii*

Znany również pod nazwą *Pneumocystis jiroveci*. Jest grzybem wywołującym u człowieka pneumocystozowe zapalenie płuc (w starej klasyfikacji był ujęty jako pierwotniak). Wiedza na temat etiologii tych zakażeń jest skąpa, w USA 75% dzieci w wieku pięciu lat już ma wytworzone przeciwciała przeciwko *P. carinii* z czego się wnioskuje że występowanie tego grzyba jest powszechne. Choroba dotyka głównie ludzi z upośledzoną odpornością (AIDS), również niemowlęta i noworodki. Dorośli zwykle nie chorują, lecz mogą pozostawać bezobjawowymi nosicielami i drogą kropelkową zarażać. Drobnoustroje występują u nosicieli w pęcherzykach płucnych. Jeśli już dojdzie do objawowego rozwoju choroby, rozwija się śródmiąższowe zapalenie płuc ze wszystkimi towarzyszącymi objawami – duszność, kaszel, gorączka.

Wykrycie *Pneumocystis* polega na badaniu płwociny lub popłuczyn oskrzelowo – pęcherzykowych. Zarówno profilaktyka jak i leczenie polega na podawaniu kotrimoksazolu.

GRZYBY

77. *Candida*

Drożdżaki *Candida* są powszechnym drobnoustrojem komensalnym rozpowszechnionym na całym świecie, należą do flory fizjologicznej. Są organizmami jednokomórkowymi, rozmnażającymi się przez pączkowanie lub przez podział, komórki mają zazwyczaj pojedyncze jądro. Najczęstszym przedstawicielem i jednocześnie najczęstszym patogenem z tej grupy jest *Candida albicans*.

Do zakażeń dochodzi w stanach upośledzonej odporności komórkowej lub zaburzeń flory przewodu pokarmowego które ułatwiają rozmnażanie się, nadmierny wzrost drożdżaków i rozpowszechnianie się drogą krwionośną.

Drożdżycza (kandydoza) najczęściej dotyczy skóry, błon śluzowych lub paznokci, w rzadkich przypadkach jest to infekcja uogólniona. Często przyczyną wystąpienia zakażeń grzybiczych jest stosowanie przedłużonej antybiotykoterapii. Rozwojowi choroby sprzyjają również: niedobory witaminowe, maceracja naskórka związana z nadmiernym poceniem, otyłość, cukrzyca, ciąża, mikrourazy skóry, alkoholizm.

Drożdżycę rozpoznaje się na podstawie objawów klinicznych, badań mikroskopowych i hodowlanych.

Kandydoza ogólna występuje po przedostaniu się grzyba do krwi, może wówczas rozwinąć się rozsiane zapalenie skóry i błon śluzowych lub zakażenia narządowe.

Leczenie miejscowe skóry polega na smarowaniu zmienionych miejsc maściami lub kremami z nystatyną lub ketokonazolem, kandydozę przełyku leczy się doustnymi preparatami, a w przypadku kandydozy ogólnej lekiem z wyboru jest amfoterycyna B.

Candida albicans jest niepozornym organizmem bakteryjno – drożdżowym z pogranicza świata roślinnego zamieszkującym dolną część przewodu pokarmowego. Nie stwarza żadnego zagrożenia dla człowieka dopóki nasz organizm posiada normalnie funkcjonujący i sprawny układ odpornościowy, w innym przypadku może prowadzić do kandydozy.

Główne przyczyny drożdżycy to upośledzona oporność komórkowa albo neurotopenia, długotrwałe przyjmowanie antybiotyków, zabiegi inwazyjne takie jak wszczepianie sztucznej zastawki, stres, wyczerpanie, brak snu i wypoczynku a także zła dieta.

Mnogość objawów związanych z zakażeniem *Candida* sprawia iż nie można dokonać ich ścisłej klasyfikacji (*Virella* dzieli na kandydozę powierzchniową – skóra i dotykającą błony śluzowe). Uogólniona – prowadząca do rozsianego zakażenia skóry i błon śluzowych lub zakażeń narządowych oraz na zapalenie wsierdza – po wszczepieniu zastawek). Objawy dotyczące przewodu pokarmowego to suchość w ustach i gardle, biały nalot na języku, nieprzyjemny zapach z ust, zaparcia lub biegunki, bóle brzucha, zapalenia jelita grubego, alergię pokarmową. Objawy dotyczące narządów rodnych – zapalenia pęcherza moczowego i dróg moczowych, zapalenie prostaty, częstomocz zanik popędu płciowego, niepłodność objawy dotyczące skóry – potliwość, obniżona temperatura ciała (zimne ręce i stopy), sucha i łuszcząca się skóra, egzema, grzybice skórne, pseudo-łuszczycy, wypryski skórne, trądzik objawy dotyczące zaburzeń psychicznych- trudności w koncentracji i zapamiętywaniu, zmienność nastrojów, napady lęku, płaczu, paniki, senność, stany depresyjne.

Kandydozę powierzchniową rozpoznaje się na podstawie objawów klinicznych i ewentualnie potwierdza preparatem grama lub poprzez badanie mikroskopowe fragmentów skóry lub błon śluzowych umieszczonych w KOH. Rozpoznanie kandydozy uogólnionej wymaga izolacji drobnoustrojów. W zależności od objawów pobiera się odpowiedni materiał. Wykonuje się badania histologiczne – *C. albicans* może wyglądać jak drożdżak lub tworzyć strzępki rzekome (badanie mikroskopowe krwi na obecności komórek grzyba we krwi jest bezpośrednim dowodem potwierdzającym chorobę) hodowle – posiewy z kału, błon śluzowych oraz wydzielin, a także badania serologiczne – testy ELISA wykrywający przeciwciała przeciwko określonemu gatunkowi grzyba. Test PCR, czułe i specyficzne badanie genetyczne, pozwalające na identyfikację materiału genetycznego grzyba.

Leczenie kandydozy powierzchniowej – Kremy z nystatyną lub ketokonazolem na zakażenia skóry, jamy ustnej i gardła. Doustnie klotrymazol, ketokonazol, flukonazol na kandydozę przełyku. Aby zmniejszyć ryzyko nawracający zakażeń, których źródłem jest przewód pokarmowy, w leczeniu kandydozy pochwy zaleca się doustnie ketokonazol lub flukonazol obok czopków albo maści dopochwowych. W leczeniu kandydozy uogólnionej lekiem z wyboru jest amfoterycyna B. Jeśli źródłem zakażenia jest sztuczna zastawka serca lub cewnik, należy je usunąć aby uniknąć daremnego leczenia farmakologicznego.

78. Geotrichum

Geotrichum candidum jest kolejnym rozpowszechnionym przedstawicielem drożdżaków, występuje również w fizjologicznej florze człowieka, zasiedla przewód pokarmowy i może być izolowany z kału i płwociny. W sprzyjających dla siebie warunkach może dawać oportunistyczne infekcje, geotrichozy. Droga wziewna i pokarmowa są głównymi wrotami zakażenia, a postaci kliniczne geotrichoz to najczęściej infekcje błon śluzowych, płuc i oskrzeli.

79. Cryptococcus

Cryptococcus neoformans posiada otoczkę i rozmnaża się przez pączkowanie podczas którego da się zaobserwować charakterystyczne zwężenie u podstawy. Ten drożdżak jest również szeroko rozpowszechniony, a jego głównym rezerwuarem są wilgotne ściany budynków. Do zakażenia tym grzybem najczęściej dochodzi drogą wziewną lub przez kontakt z ptasimi odchodami (gołębie, kury).

Głównym czynnikiem zjadliwości tego grzyba jest jego otoczka polisacharydowa która uniemożliwia fagocytozę komórkom żernym.

Postacią kliniczną kryptokokozy jest kryptokokowe zapalenie OUN. Pierwotne zakażenie układu nerwowego, pomimo silnego neurotropizmu tego grzyba, spotykane jest sporadycznie. Najczęściej dochodzi do zajęcia OUN wtórnie, drogą krwiopochodną, w następstwie zmian w błonach śluzowych, skórze lub w układzie oddechowym. Chorują ludzie z osłabioną odpornością, często wyniszczeni innymi przewlekłymi chorobami (nowotwory, ciężkie zakażenia) lub z odpornością uszkodzoną chemio- lub radioterapią.

W większości przypadków choroba zaczyna się powoli - bólami głowy, osłabieniem, stanami gorączkowymi, nudnościami. Z biegiem czasu narastają objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego, obserwuje się objawy ogniskowe (często wielogniskowe), uszkodzenie nerwów czaszkowych. Choroba powoli postępuje, czasem z okresami zwolnień i zaostrzeń. Czasem przebieg ma charakter ostrego z dużym odczynem oponowym i burzliwymi objawami od początku choroby. Jest to choroba o złym rokowaniu. Rozpoznanie polega na badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego, badaniem histologicznym lub serologicznym.

Leczenie polega na skojarzonym podawaniu amfoterycyny B i 5-fluorocytozyny.

Cryptococcus, grzyb należący do klasy Deuteromycetes – grzyby niedoskonałe. Gatunek ten ma otoczkę, wymiary 5-10 um (bez otoczki) i rozmnaża się przez pączkowanie. Chorobotwórczy drożdżak *Cryptococcus neoformans* wywołuje u człowieka grzybicę głęboką (narządową), zwaną kryptokokozą, torulozą lub drożdżycą europejską.

Zakażenie lokalizuje się najczęściej w układzie nerwowym, płucach, skórze i tkance podskórnej, zarazek może jednak atakować również każdą inną tkankę. Źródłem zakażenia jest przede wszystkim ziemia, odchody gołębi i kur. Droga wziewna jest podstawowym sposobem zakażenia.

Czynniki determinujące chorobotwórczość:

- otoczka polisacharydowa uniemożliwiająca fagocytozę,
- wydzielanie melaniny również chroniące przed fagocytozą.

Objawy kliniczne:

Rezerwuarem *Cryptococcus neoformans* są ptaki i doniczki z roślinami, a zakażenie najczęściej następuje w wyniku inhalacji. Kryptokokoza ma charakter grzybicy wtórnej. Zmiany chorobowe lokalizują się początkowo w płucach, a następnie w wyniku rozsiewu drogą krwiopochodną, najczęściej w OUN. Rzadziej obserwuje się izolowane zapalenie węzłów i naczyń limfatycznych, zmiany skórne, zakażenie układu pokarmowego lub moczowo-płciowego. Objawy choroby narastają w czasie kilku dni. Dominują bóle głowy, gorączka, zaburzenia świadomości, sztywność karku, śpiączka. Dość często występują niedowład, afazja, zaburzenia wzroku oraz porażenia nerwów czaszkowych. Rzadko stwierdza się dodatnie objawy oponowe.

Rozpoznanie:

- Badanie PMR jest podstawowa metoda rozpoznania zapalenia opon m-r. Oprócz badania białka glukozy i leukocytów, wykonuje się również odczyn aglutynacji lateksu który wykrywa antygen grzyba.
- Badanie histologiczne pomaga w wykryciu gdy odpowiedź zapalna jest nieobecna, gdy tworzą się ziarniaki. Wybarwia się preparaty metodą H+E, wykonuje się również immunofluorescencję bezpośrednią.
- Badanie serologiczne pokazuje wiązanie przeciwciał z komórkami grzyba w organizmie.
- Hodowla jest najbardziej swoistym sposobem rozpoznania kryptokokozy, materiałem może być: płyn m-r, materiał z biopsji lub mocz. Identyfikacja opiera się na wytwarzaniu ureazy, asymilacji węglowodanów lub immunofluorescencji.

„Rozpoznanie kryptokokowego zapalenia płuc wymaga różnicowania z gruźlicą. Obraz radiologiczny klatki piersiowej jest mało charakterystyczny, niekiedy prawidłowy. W diagnostyce zaleca się TK o wysokiej rozdzielczości oraz potwierdzenie mikrobiologiczne popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych. Znaczenie pomocnicze może mieć wykrywanie antygenów *Cryptococcus neoformans* w surowicy krwi. U chorych z objawami neurologicznymi zaleca się wykonanie MRI głowy. Zwykle jedynym objawem jest obrzęk mózgu, tylko sporadycznie stwierdza się obecność pojedynczych lub licznych ognisk zapalnych. W tych przypadkach rozpoznanie wymaga badania płynu mózgowo-rdzeniowego i potwierdzenia obecności drobnoustroju w preparacie bezpośrednim lub hodowli. W kryptokokozy skórnej ustala się je na podstawie wyniku biopsji. W początkowym okresie choroba wymaga różnicowania z mięczakiem zakaźnym.”

Leczenie opiera się na amfoterycynie i 5-fluorocytozynie.

80. *Aspergillus* – kropidlak

Charakterystyka ogólna: Występuje na całym świecie, w ziemi, żywności a nawet środkach odkażających. Należy do grzybów nitkowatych. Jest odpowiedzialny za grzybicę kropidlakowa, drugą co do częstości występowania grzybicą oportunistyczną. Najczęstsza przyczyna w USA są zakażenia wywołane przez 3 gatunków: *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*.

Objawy kliniczne: zakażenie może umiejscawiać się niemal prawie w każdej tkance ale najczęściej dotyczy układu oddechowego. Istnieją 3 typy takiej głębokiej aspergillozy płucnej:

- alergiczna (np. astma oskrzelowa),
- inwazyjna (komórki grzyba naciekają miąższ płucny, postać ta występuje najczęściej u osób z obniżoną odpornością i u dzieci z ziarninamiakami i immunosupresantami),
- grzybniak kropidlakowy (*aspergilloma*) – postać ta powstaje zwykle w jamach pogrążonych. Patognomicznym objawem radiologicznym są półksiężycowate kieszenie powietrzne, częściowo otaczające okrągła małe grzybnie znajdujące się w jamie. Grzybniakami kropidlakowe nie są na ogół inwazyjne.

Rozpoznanie: *Aspergillus* może naciekać oskrzela. Łańcuchy konidiów znajdują się wówczas w drogach oddechowych i mogą być widoczne w płwocinie. Najczęściej rozpoznanie aspergillozy potwierdza się po chirurgicznym pobraniu wycinka. W wycinkach widoczne są szerokie strzępki z przegrodami. Obecne mogą być komórki olbrzymie, neutrofile i eozynofile. Można wykonać badanie serologiczne zwłaszcza w przypadku alergii.

Postać alergiczna leczy się objawowo, unikają ekspozycji (co jest trudne), przeprowadza się ponadto leczenie odczulające. Grzybiak kropidlakowy leczy się chirurgicznie. U pacjentów z postacią inwazyjną aspergillozy przeprowadza się przeciwgrzybicze leczenie amfoterycyna B. Skuteczny jest także itraconazol.

81. Dermatofity: *Trychophyton* i *Epidmophyton*

Trychophyton

Grzyby z tego rodzaju należą do dermatofitów, zarażają skórę i jej przydatki. Najczęściej występującymi dermatofitami wywołanymi przez grzyby *Trychophyton* są grzybicę stóp (stopa atlety), brody (u mężczyzn), płytki paznokciowej, skóry głowy (grzybica woszczynowa, strzygąca). Dermatofity mają powinowactwo do głównego białka naskórkowego – keratyny, i wykorzystują ją jako pożywienie, a wszystkie struktury rogowaciejące - warstwę rogową naskórka, włos i jego mieszek oraz płytki paznokciowe – traktują jako niszę ekologiczną. Kiełkujące zarodniki wytwarzają tam grzybnię, która rozprzestrzenia się, niszcząc struktury anatomiczne i wywołuje różnie nasilony stan zapalny spowodowany odpowiedzią typu komórkowego na antygeny grzyba. Rozwój grzybic powoduje wypadanie włosów, ich uszkodzenie i łamliwość.

Grzyby antropofilne, *Trychophyton rubrum*, *T. violaceum*, rosną najczęściej wewnątrzwłosowo – endotrix – lub powodują powstawanie tzw. tarczki woszczynowych (*favus*), np. *Trychophyton schoenleini*. W typie endotrix włosy są matowe i ułamane na różnej wysokości w odległości kilku cm od skóry, co nazywamy grzybicą strzygącą.

Epidermophyton

Jest dermatofitem występującym na całym świecie, zakażającym skórę i paznokcie, lecz grzybice wywołane przez te gatunki nie dotyczą włosów. Jedynym patogennym gatunkiem jest *Epidermophyton floccosum*. Infekcje ograniczają się do kolonizowania martwej warstwy naskórka, bowiem grzyb ten nie wykazuje zdolności do penetrowania zdrowej tkanki. Uogólnione grzybice są bardzo mało prawdopodobne z powodu preferowania tkanek zkeratynizowanych. Najczęstsze grzybice z udziałem *Epidermophyton* to grzybice stóp, pachwin, rąk.

82. Klasyfikacja zakażeń grzybiczych

Zakażenia grzybicze – grzybice można podzielić różnorodnie, ze względu na obszar zakażony (powierzchnowe i głębokie), konkretny obszar z wyszczególnieniem skóry owłosionej i nieowłosionej, nazwy organu lub ze względu na czynnik etiologiczny wywołujący daną chorobę.

Grzybice skóry (dermatofitozy) są wywoływane przez dermatofity (3 rodzaje: *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton floccosum*)

Chromomikrozy (tkanka podskórna) wywoływane przez grzyby nitkowate (*Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea compacta*, *Philophora verrucosa*)

Zygomikozy (mukormikoza, fikomikoza) – wywoływane przez grzyby nitkowate (*Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*)

Kandydoza powierzchniowa i uogólniona – przez drożdżaki *Candida* spp. (najczęściej *albicans*)

Kryptokokoza – przez drożdżak *Cryptococcus neoformans*

Blastomikoza (płuca + skóra) – przez grzyb dimorficzny *Blastomyces dermatitidis*

Histoplazmoza – (układ siateczkowo – śródbłonkowy) – przez grzyb dimorficzny *Histoplasma capsulatum*

Kokcydioidomikoza – przez grzyb dimorficzny *Coccidioides immitis*.

Parakokcydioidomikoza – przez grzyb dimorficzny *Paracoccidioides brasiliensis*

Sporotrychoza – przez grzyb dimorficzny *Sporothrix schenckii*

83. Zespół TORCH

Zespół TORCH – zespół chorobowy, określający różnego rodzaju fetopatie, układające się w jednolity obraz kliniczny. Jego nazwa jest akronimem pochodzącym od angielskich nazw czynników zakaźnych, które go wywołują:

Toxoplasmosis – toksoplazmoza

Other – inne (np. wirus grypy, odry, wirusy Coxsackie, wirus B19)

Rubella – różyczka

Cytomegalia – cytomegalia

Herpes – wirus opryszczki

Objawy zespołu TORCH to niedobór masy ciała spowodowany wcześniactwem lub dystrofią wewnątrzmaciczną płodu wady ośrodkowego układu nerwowego, wodogłowie, głuchota, wzmożone lub osłabione napięcie mięśniowe, powiększenie wątroby lub śledziony, wady serca, niedorozwój kończyn, niedokrwistość, małopłytkowość, neutropenia, zmiany skórne (wysypka, wybroczyny).

Do zakażenia tymi patogenami może dojść w okresie wewnątrzmacicznym, śródporodowym (cytomegalia). Główne metody diagnostyczne w zakażeniach z grupy TORCH to metody bezpośredniej identyfikacji patogenów (posiewy bakteriologiczne, hodowla tkankowa, próby biologiczne, wykrywanie antygenów, metody biologii molekularnej), albo metody pośrednie - wykonywanie swoistych odczynów serologicznych. Metody PCR dają możliwość szybkiej diagnostyki, z kolei badania serologiczne u noworodków i niemowląt muszą być interpretowane z uwzględnieniem dynamiki zachowania się przeciwciał (obniżanie się lub narastanie), a także wyników badań serologicznych wykonywanych u matki (opryszczka typ 2) lub poporodowym (np. wirus HIV, cytomegalii).

W leczeniu zakażeń wrodzonych stosowane są antybiotyki, leki przeciw pasożytnicze i przeciwwirusowe. Zapobieganie poprzez uodpornienie czynne możliwe jest tylko we wrodzonej różyczce i zakażeniu HBV.

WIRUSOLOGIA

84. Budowa i replikacja wirusów

Pojedynczą cząsteczkę wirusa nazywamy wirionem. Każdy wirion wykazuje obecność określonych elementów, a są nimi kapsyd i kwas nukleinowy:

- kapsyd, czyli płaszcz białkowy, okrywający kwas nukleinowy, zbudowany z białkowych łańcuchów zwanych kapsomerami
- kwas nukleinowy, niosący informację genetycznie niezbędną do replikacji oraz kodujący białka strukturalne (kapsomery) i ewentualnie enzymy (np. odwrotną transkryptazę). Kwas nukleinowy wraz z kapsydem nazywamy nukleokapsydem

Oprócz tego, niektóre wirusy mogą być otoczone dodatkową osłonką lipidową. Dotyczy to tych serotypów, które uwalniają się z komórki przez pączkowanie. Ponieważ błona jest im zwykle potrzebna do kolejnej infekcji, takie wiriony są wrażliwe na niszczący ją atak dopełniacza.

a) Kapsyd wirusa:

Podział według symetrii wirionu:

- Symetria kubiczna / ikozaedralna, która charakteryzuje się tym, że wirion ma kształt bryły foremnej. Zwykle jest to dwudziestościan foremny (ikozaedr): adeno-, reo-, irydo-, herpes-, pikorna- wirusy.
- Symetrię helikalną, którą obserwujemy u wirusów mających śrubowato zawinięty nukleokapsyd, wszystkie ludzkie wirusy helikalne mają osłonkę = korona-, rabdo-, paramyxo-, ortomikso-, bunia-, arena- wirusy. Większość wirusów tej grupy nie ma osłonki poza: toga-, herpes-, retro-, flawiwirusami.
- Symetria złożona, która opisuje wirusy nie dające się zaliczyć do dwóch poprzednich rodzajów symetrii.

Symetria wirionu może nie być dostrzegalna na pierwszy rzut oka, co wynika z faktu istnienia osłonek lipidowych, mogących zakrywać rzeczywisty kształt nukleokapsydu. Jest tak zwłaszcza w przypadku wirusów o symetrii helikalnej, których otoczka jest dodatkowo wzmocniona warstwą tzw. białka M.

b) Budowa genomu wirusowego

Wirusy posiadają tylko jeden rodzaj kwasu nukleinowego, na dodatek wykazującego odpowiednie dla danego gatunku lub wyższej jednostki taksonomicznej cechy. W związku z tym możemy wyróżnić następujące formy kwasów nukleinowych stanowiących genom wirusowy i mających znaczenie systematyczne:

- DNA – wirusy zawierające go w wirionie to tzw. wirusy DNA
 - jednoniciowy (ssDNA)
 - częściowo jednoniciowy – charakterystyczny dla hepadnawirusów
 - dwuniciowy (dsDNA)
- RNA – wirusy zawierające go w wirionie to tzw. wirusy RNA
 - jednoniciowy
 - o polarności dodatniej – może pełnić funkcje mRNA kodującego białka
 - o polarności ujemnej – RNA musi być najpierw przepisany na mRNA
 - dwuniciowy

Większość wirusów ma genomy liniowe, oprócz papowirusów (genom kolisty).

Kwas nukleinowy może być zakaźny lub niezakaźny. W przypadku zakaźnego:

- wprowadzenie go do komórki powoduje powstanie wirusów potomnych,
- zakaźne genomy DNA ulegają transkrypcji na mRNA za pośrednictwem polimeraz komórkowych,
- zakaźne genomy RNA ulegają translacji bezpośrednio na białka z udziałem rybosomów

c) Osłonka wirusowa

Nabywana jest z błony komórkowej podczas faz replikacji.

Zbudowana z potrójnej warstwy lipidowej z błony komórkowej oraz kodowanych przez wirusa glikoprotein (zakotwiczone w warstwie lipidowej, wystające na zewnątrz) – pobudzają one interakcje z białkami nukleokapsydu oraz biorą udział w przyleganiu do receptorów komórkowych.

Rozpuszczalniki naturalne i detergenty rozpuszczają osłonkę, powodując utratę zakaźności przez wirusa

d) Białka wirusowe:

- Strukturalne
 - część jest związana z kwasem nukleinowym i odpowiedzialna za dystrybucję genów wirusowych,
 - inne tworzą warstwy ochronne wirusa (kapsyd, osłonka).
- Enzymy:

- polimerazy wirusowe – niezbędne do replikacji kwasu nukleinowego. Częśćka wirusowa zawiera jedynie składniki niezbędne do procesu replikacji. Jeśli wirusowy kwas nukleinowy może być ‘czytany’ przez polimerazy komórkowe, wirusowe polimerazy ulegną ekspresji w zakażonych komórkach, lecz nie ma ich w wirionach.
- proteazy – udział w modyfikacji potranslacyjnej bądź w uwolnieniu kwasu nukleinowego z nukleokapsydu,
- endonukleazy i ligazy – replikacja niektórych wirusów.

Namnażanie wirusów jest zależne od rodzaju kwasu nukleinowego, który znajduje się w wirionie.

- Wirusy zawierające dsDNA. W tym przypadku wirus po wnikięciu do komórki rozpoczyna najpierw wytworzenie tzw. "wczesnego mRNA" na matrycy DNA pochodzącego z wirionu. Zwykle jednym z genów zawartych w genomie wirusa i odczytywanym poprzez wczesne mRNA jest DNA-zależna polimeraza DNA, która dokonuje powielenia wirusowego DNA. Dopiero z takich powielonych cząsteczek DNA następuje produkcja "późnego mRNA", kodującego kapsomery oraz inne białka uczestniczące w składaniu wirionów.
- Wirusy zawierające ssDNA. Mogą one zawierać w kapsydach zarówno DNA o dodatniej polarności, jak i polarności ujemnej. Charakterystyczną cechą jest pętela powstała przez zawinięcie końcówki liniowej cząsteczki DNA, która służy jako starter podczas replikacji DNA. Sam proces replikacyjny jest stosunkowo skomplikowany i wiąże się z kilkukrotną replikacją materiału genetycznego, który następnie jest rozdzielany na nici i cięty za pomocą nukleaz.
- Wirusy ssRNA o dodatniej polarności. Po wnikięciu wirusa do komórki następuje produkcja białek bezpośrednio z genomowego RNA, który może w tym wypadku pełnić rolę mRNA. W pewnym momencie rozwoju, gdy wytworzone zostaną odpowiednie białka, następuje powstanie dwuniciowej formy pośredniej RNA, która z składa się zarówno z macierzystej nici o dodatniej polarności, jak i z nici o polarności ujemnej. Ta właśnie nić jest matrycą dla produkcji wielu kopii genomowego ssRNA(+).
- Wirusy ssRNA o ujemnej polarności. W ich przypadku musi najpierw dojść do stworzenia kopii o charakterze mRNA (czyli RNA o dodatniej polarności), a następnie z tych kopii są produkowane białka. Powstaje też dwuniciowa forma pośrednia, której nić RNA(+) służy do powstania licznych genomów RNA(-)

85. Wirusy zapalenia wątroby A-C (Hepatitis A, B, C Virus – HAV, HBV, HCV)

WZW typu A

Wirus zapalenia wątroby typu A określa się jako hepatowirus Picornaviridae. HAV jest małym wirusem RNA, którego genom ma postać jednoniciowego RNA. Odpowiada on za syntezę pojedynczego polipeptydu, rozcinanego przez proteazy wirusowe. Kapsyd składa się z trzech głównych polipeptydów (VP1, VP2, VP3). W porównaniu z innymi picornawirusami HAV wykazuje większą odporność na ogrzewanie, detergenty, proteazy, co tłumaczy łatwość, z jaką szerzy się w naszym środowisku. W reakcji na zakażenie syntetyzowane są przeciwciała neutralizujące skierowane przeciw blisko skupionym epitopom zlokalizowanym na powierzchni wirusa.

Współczynnik śmiertelności wynosi mniej niż 0.1% i jest związany z zakażeniem HAV (martwica komórek wątroby). Zakażenie wirusem jest powszechne w skali światowej. Najbardziej podatne na zakażenia są dzieci i młodzież, u których choroba przebiega łagodnie i bezobjawowo. Przebycie zakażenia jest jednoznaczne z nabyciem oporności na całe życie, epidemie bowiem w wieku dorosłym zdarzają się rzadko.

- Drogi zakażenia: HAV szerzy się drogą feralno – oralną. Pacjenci są najbardziej zakaźni przed wystąpieniem żółtaczki lub na jej początku. Częśćka jest oporna na degradację, pozostaje w środowisku zachowując zdolność do zakażeń przez kilka tygodni. Przenoszenie wirusa z człowieka na człowieka może wywołać ogniska zachorowań w miejscach o niskim poziomie higieny osobistej np.: żłobki, więzienia, szpitale psychiatryczne. Zanieczyszczenia źródeł takich jak woda kałem zakażonej osoby (może to prowadzić do nagłych epidemii).
- Wirus HAV wywołuje ostrą wysoce zakaźną formę zapalenia wątroby, zwaną wcześniej żółtaczką zakaźną. Zakażenia bezobjawowe:
 - większość u dzieci przebiega bezobjawowo, a wiele przypadków objawowych przebiega bez żółtaczki i nie jest właściwie rozpoznawany. U dorosłych zakażenie przebiega zazwyczaj z charakterystycznymi objawami.

Zakażenia objawowe:

- okres wylegania trwa 2-6 tygodnie, po nich pojawiają się typowe dla chorób wirusowych objawy
- występują dwie fazy choroby
- faza przedżółtaczkowa – brak apetytu, nudności, wymioty, rozbicie, bóle mięśniowo – stawowe, stany podgorączkowe

- faza żółtaczkowa – hiperbilirubinemia, powiększenie wątroby, bolesność w prawym górnym kwadracie brzucha, w miarę nasilania się bilirubinemii ciemnieje mocz a jaśnieją stolce. Pojawia się żółtaczką, początkowo widziana na twardówkach a potem na skórze. Wystąpieniu żółtaczki towarzysza ustąpienie gorączki oraz poprawa samopoczucia. Chory przestaje eliminować wirus i staje się niezaraźliwy, po kilku następnych dniach wraca apetyt i ustępuje żółtaczką.
- c) Diagnostyka laboratoryjna:
Rozpoznanie zapalenia opiera się na obrazie klinicznym oraz wynikach badań czynności wątroby i jej stanu zapalnego (bilirubina w surowicy, AspAT, AlAT). Identyfikacja czynnika etiologicznego oparta na testach serologicznych wykrywa przeciwciała przeciwko wirusowi HAV. Stwierdzenie Anty-HAV klasy IgM świadczy o obecnym lub niedawno przeżytym zakażeniu, natomiast Anty-HAV IgG (bez IgM) – dawno przeżyta ekspozycja na wirus.
- d) Leczenie objawowe. Preparaty ludzkiej γ -globuliny zawierającej przeciwciała anty-HAV podane zaraz po kontakcie z wirusem mogą zapobiec chorobie lub złagodzić jej objawy. Odporność po zakażeniu pozostaje na całe życie, a nawroty zdarzają się rzadko.

WZW typu B

Zakażenie wirusem WZW typu B jest przyczyną znacznej zachorowalności i wysokiej śmiertelności. Co szczególne ważne, choroba wykazuje tendencje do przewlekania się, może prowadzić to stałego nosicielstwa, co może być przyczyną marskości wątroby i nowotworów złośliwych wątroby. Z tego też względu uważane jest za groźniejsze od WZW typu A. Chorzy, u których brak jest skutecznej odpowiedzi immunologicznej mogą być nosicielami wirusa w zakaźnej postaci do końca życia.

- a) Budowa: HBV jest małym opłaszczonym wirusem, zawierającym częściowo dwuniciowy DNA. DNA zawiera cztery podstawowe geny, z których każdy koduje syntezę więcej niż jednego białka. Wirus ma średnicę 42 nm i składa się z:
 - lipidowej zewnętrznej osłonki z antygenem powierzchniowym wirusa HBV(HBsAg)
 - wewnętrznego rdzenia białkowego, zbudowanego z antygeny rdzeniowego wirusa HBV(HBcAg), otaczającego wirusowy kwas nukleinowy
 - antygen E wirusa HBV nie jest częścią składową wirusa, HBeAg jest syntetyzowany w wyniku translacji RNA kodującego regiony przedrdzeniowe i rdzeniowe HBcAg. HBeAg modyfikuje odpowiedź immunologiczną gospodarza na wirusy HBV i jest ważnym wskaźnikiem zakaźności. Mutacje punktowe uniemożliwiające translacje HBeAg powodują powstanie zmutowanych szczepów wirusa.
 - genomu składającego się z kołowego DNA o podwójnej nici, z niekompletną nicią dodatnią
 - polimerazy DNA pełniące również funkcje odwrotnej transkryptazy.
 Wyróżnia się 4 antygenowo różne szczepy wirusa HBV, wszystkie szczepy wywołują takie same objawy kliniczne.
- b) Drogi zakażenia:
Wirus HBV znajduje się w:
 - krwi i produktach krwiopochodnych (najważniejsze źródła pozajelitowego szerzenia się zakażenia),
 - ślina i sperma (kontakty płciowe),
 - poza tym znajduje się w moczu, kale, mleku kobiecym, płynie maziowym, płynie mózgowo-rdzeniowym.
- c) Zachorowalność: ostra postać wirusa jest rzadko wykrywana u dzieci poniżej 14 lat, natomiast zachorowalność osiąga szczyt w grupie wiekowej 15-19. Pracownicy służb zdrowia, służb więziennych, narkomani, chorzy na hemofilię, poligamiści, dializowani pacjenci są szczególnie narażeni.
- d) Obrazy kliniczne:
 - ostre zakażenia bezobjawowe są częstsze niż objawowe, podwyższona aktywność enzymów wątrobowych w tych przypadkach
 - objawowe zakażenie – ciężkość przebiegu choroby zależy od liczby zakażających wirusów
 - zakażenia bezżółtaczkowe – charakteryzują się złym samopoczuciem i brakiem apetytu, bilirubinemia, ciemne zabarwienie moczu bez żółtaczki, podwyższona aktywności transaminaz w surowicy
 - zakażenia żółtaczkowe – po okresie złego samopoczucia i braku apetytu pojawia się żółtaczką, wraz z nią objawy mogą się nasilić lub złagodzić; rozpoznanie można potwierdzić przy pomocy badań serologicznych
- e) powikłania występują u 10-20 % pacjentów hospitalizowanych, u których może rozwinąć się:
 - zespół typu choroby posurowiczej,
 - guzkowe zapalenie tętnic,
 - kłębuszkowe zapalenie nerek,
- f) spośród zakażonych osób, u wielu rozwija się przewlekle przetrwałe zapalenie wątroby typu B, a u nielicznych przewlekle aktywne wirusowe zapalenia wątroby
 - przetrwałe przewlekle zapalenie wątroby typu B – występują skąpe objawy chorobowe, klinicznie pacjenci pozostają w dobrym stanie lecz są potencjalnie zakaźni, może prowadzić do krańcowej niewydolności wątroby

- przewlekłe aktywne zapalenie wątroby typu B – pacjenci częściej mają objawy chorobowe, i zaostrzenie WZW
Przewlekły stan zapalny i martwica komórek wątrobowych prowadzi do marskości i raka wątroby.
- g) leczenie objawowe
 - INF- α – efekt widoczny u mniej niż 50%
 - lawiudyna – hamuje przewlekłe zakażenia

WZW typu C

Wirus ten stanowi przyczynę zapaleń wątroby głównie krwiopochodnych. Po fazie OZW jeszcze przez wiele tygodni tzw. próby wątrobowe wykazują wartości patologiczne. U większości osób dochodzi do wyzdrowienia, a u 20-40% rozwija się przewlekła postać choroby

- a) budowa: wirus z osłonką o średnicy 35-50 nm, zawiera pojedynczą nić RNA o dodatniej polarności otoczona białkowym kapsydem
- b) epidemiologia: HCV szerzy się pozajelitowo jest to główna przyczyna potransfuzyjnego zapalenia wątroby, a także szerzy się wśród osób używających dożylnie narkotyki oraz jest przyczyną wirusowego WZW typu nie A, nie B.
Okres wylegania ostrego WZW C, nabytego po przetoczeniu zakażonej krwi wynosi 3-4 tygodnie. Okres żółtaczkowy choroby jest poprzedzony uczuciem rozbicia
- c) obraz kliniczny: większość zakażeń przebiega bezobjawowo, jednak ponad 70% zakażonych staje się przewlekłymi nosicielami, a w znacznej części do przewlekłego zapalenia
- d) diagnostyka: test enzymatyczny EIA, rekombinowany test immunoblotting oraz wykrywanie przeciwciał anti-HBc który jest podstawowym testem
- e) leczenie objawowe: INF

86. Retrowirusy – HIV; AIDS

HIV (human immunodeficiency virus) jest retrowirusem z rodzaju lentowirusów. Poznano dwa typy, HIV-1 i HIV-2 (mniej wirulentny i rzadziej wywołujący pełnoobjawowy AIDS).

Materiał genetyczny tego wirusa składa się z dwóch kopii dodatnio naładowanych nici RNA, które są zamknięte w otoczce złożonej z 2000 kopii białka wirusowego p24 (białko kapsydowe rdzenia wewnętrznego). Pojedyncza nić RNA jest ściśle związana z białkami nukleokapsydu, p7, p6 i enzymów potrzebnych do rozwoju wirusa jak: odwrotna transkryptaza (dimer p66 i p51), polimeraza, rybonukleaza, endonukleaza (p31) i integraza (produkty genu pol). Matrix (przestrzeń między rdzeniem a osłonką zewnętrzną wirusa) stanowi białko p17, czyli białko matrycowe. Całość otoczona jest przez osłonką lipidową z której „wystaje” glikoproteina gp160. Gp160 składa się z dwóch segmentów: transbłonowej gp41 i większej, zewnętrznej gp120. Gp120 służy wirusowi do łączenia się z CD4 komórek gospodarza, jest wysoce immunogenna i posiada dużo zmiennych regionów. Gp41 jest potrzebne do fuzji wirusa z komórką.

Ważne geny:

gag, pol, env – kodują białka strukturalne
nef, rev, tat, vif, vpr, vpu – kodują białka regulacyjne

HIV wykazuje tropizm względem limfocytów CD4, makrofagów i komórek mikrogleju. Zakażenie makrofagów przebiega z udziałem koreceptora β -chemokinowego CCR5, w ten sposób zainfekowane komórki mogą stawać się źródłem przetrwałego zakażenia. Komórki z CD4+ są infekowane z udziałem receptora α -chemokinowego CXCR4. Wirusy które używają receptorów CXCR4 zostały nazwane X4, wirusy które używają CCR5 nazywamy R5, a te, które używają obydwu – X4R5

Ludzie u których występuje mutacja jednego z tych receptorów są odporni na zarażenie HIV, ponieważ wirus nie może się związać z receptorem.

Główną drogą zakażenia HIV jest stosunek płciowy, bowiem zarówno X4 jak i R5 są obecne w nasieniu i wydzielinie śluzowej. Ta droga prowadzi do predominacji R5 lecz nie zostało wyjaśnione w jaki sposób odbywa się ta selekcja.

Penetracja wirusa do komórki polega na: przyłączeniu gp120 do CD4 co zmienia strukturę błony tak, że odsłania się miejsce wiążące na receptorze chemokinowym – tym samym staje się możliwe połączenie z nim. Powstaje w ten sposób stabilne, podwójne połączenie wirusa z błoną co pozwala N-końcowi białka gp41 spenetrować błonę komórki. Dzięki gp41 wirus może się zbliżyć do błony komórkowej i ulec fuzji. Po wtargnięciu do komórki, enzymy wirusowe są uwalniane. HIV mogą infekować komórki dendrytyczne używając drogi CD4-CCR5 lub używając mannozo-specyficznych receptorów lecytyny typu C. Komórki dendrytyczne są zarażane jako pierwsze w czasie stosunku płciowego i pełnią rolę w przekazywaniu wirusa do limfocytów.

We wczesnej fazie wirerii stwierdza się przejściowy spadek limfocytów CD4 i ciągły wzrost liczby zarażonych limfocytów CD4 z czym koreluje wzrost poziomu antygenów dla p24 krążących we krwi, których obecność można stwierdzić w 5-10 dni po zakażeniu. Szczyt dla wykrycia krążącego zakaźnego wirusa przypada

na 10-20 dzień po infekcji i utrzymuje się do ukazania się wolnych przeciwciał anti-HIV (serokonwersji). Po procesie serokonwersji wykrycie genów wirusa jest możliwe dzięki PCR, wiadomo też, że w niektórych przypadkach wirus zostaje całkowicie wyeliminowany z organizmu, a procesy wpływające na długość przeżycia po zarażeniu wirusem są teraz głównym obiektem badań nad HIV.

Bezobjawowo zarażenie może przebiegać różnie, często nawet 10-15 lat, a w tym czasie wirus jest kontrolowany przez odpowiedź humoralną i komórkową. Przeciwciała są trojakiemu typu – neutralizujące (przeciw gp120 i gp41), wspomagające komórkową cytotoksyczność zależną od przeciwciał i przeciwciała wzmagające (wzmacniają zakaźność wirusa).

Dalszym etapem rozwoju AIDS jest narastająca immunosupresja związana z postępującym spadkiem liczby limfocytów CD4.

Klinicznie wyróżnia się 5 faz zakażenia HIV:

1. Ostra choroba związana z serokonwersją. Objawy podobne do grypy: bóle mięśni, gardła, złe samopoczucie, wysypka, gorączka, powiększenie węzłów chłonnych
2. Bezobjawowe zakażenie wirusem – pacjent jest serologicznie dodatni mimo braku objawów lub tylko z nieznacznymi dolegliwościami
3. Wczesna faza objawowego zakażenia HIV. Do objawów należą: nocne poty, osłabienie, przewlekła biegunka, bóle głowy, powiększenie węzłów chłonnych, mięsak Kaposiego
4. Późna faza objawowego zakażenia wirusem HIV. Dochodzi do zakażeń towarzyszących, np. *Pneumocystis carinii* czy toksoplazmoza
5. Zaawansowana choroba związana z zakażeniem HIV – gdy limfocyty CD4 spadają poniżej 50/mm

Pełnoobjawowy AIDS rozpoznaje się na podstawie obecności u pacjenta zakażonego HIV jednego lub kilku poniższych objawów:

1. zakażeń oportunistycznych
2. wyjątkowo częstych lub groźnych zakażeń
3. postępującego procesu kacheksji (dorośli) lub nie przybierania na wadze (niemowlęta)
4. specyficznych nowotworów
5. chorób neuropsychiatrycznych
6. limfocytarnego śródmiąższowego zapalenia płuc u dzieci i niemowląt
7. liczby limfocytów CD4 niższej niż 200/mm

Wykrywanie zakażenia HIV jest możliwe dzięki łącznie stosowanym: testowi ELISA i western blotting.

Leczenie polega na stosowaniu leków przeciwretrowirusowych w sposób skojarzony i zapobieganiu zakażeniom oportunistycznym.

87. Wirus grypy (Influenza A, B, C Virus – FLUAV, FLUBV, FLUCV)

Wirusy grypy typu A, B i C są ortomiksowirusami o dużej zjadliwości i wysokim stopniu zakaźności. Ich genom składa się z ośmiu połączonych ze sobą segmentów RNA naładowanych ujemnie. Osłonka wirusa jest dwuwarstwową błoną lipidową, w którą są wbudowane cząsteczki hemaglutyniny (H) i neuraminidazy (N). Hemaglutynina jest tą częścią, która przyłącza się do zarażonych komórek. Zarówno H i N są immunogenne, systematykę wirusów grypy prowadzi się określając typy hemaglutynin i neuraminidaz.

Dwa typy, A i B, mają skłonność do wywoływania nawracających co 1-3 lata epidemii lub pandemii. Spowodowane jest to bardzo dużą zmiennością wirusa – skokiem antygenowym (reasortacja ośmiu segmentów kwasu nukleinowego z których składa się genom wirusowy i wynikające z niej duże zmiany) i przesunięciem antygenowym (niewielkie zmiany w H i N w skutek mutacji punktowych).

Do zakażenia dochodzi przez górne drogi oddechowe, gdzie wirus przyłącza się do komórek nabłonkowych błony śluzowej i zakaża je aby po 1-3 dniowym okresie inkubacji dać pierwsze objawy kliniczne. Najczęściej początek choroby jest gwałtowny, występuje z gorączką, bólami mięśni i dreszczami, niezłym stanem błony śluzowej nosa, powiększeniem węzłów chłonnych i suchym kaszlem. Gorączka najczęściej utrzymuje się przez kilka dni, a pozostałe objawy kilka tygodni. Okres zdrowienia trwa około dwóch tygodni, przeciwciała przeciwko H osiągają szczytowe stężenie ok. 10-14 dnia od zarażenia. Większość pacjentów, którzy zapadną na grype, wraca do zdrowia w ciągu od jednego do dwóch tygodni. Każdego roku kilkadziesiąt milionów Amerykanów (od 10% do 20% populacji) zostaje zarażonych grypą.

Średnio każdego roku w USA konieczna jest hospitalizacja 114 tys. chorych na grype, a u 36 tys. kończy się ona zgonem pacjenta. Główną przyczyną śmierci nie jest sama grypa, ale występujące po niej powikłania. Każdego roku na całym świecie na ich skutek życie tracą 2 mln ludzi. Większość zgonów dotyczy pacjentów w wieku powyżej 65 lat lub młodszych, ale osłabionych przez inne niż grypa choroby. Grypa może być też niebezpieczna dla niemowląt oraz małych dzieci. W przypadku niewłaściwego leczenia albo jego braku nawet pacjenci w sile wieku mogą nabawić się poważnych komplikacji.

Rozpoznanie grypy stawia się zazwyczaj na podstawie objawów klinicznych lub wykrywając i określając poziom przeciwciał anti-H.

88. Rbdowirusy, gł. wirus wścieklizny (Rabies Virus – RABV)

Rbdowirusy (Rhabdoviridae, z gr. rhabdos – pałeczka) to rodzina wirusów charakteryzujących się złożoną symetrią (wirion ma kształt pocisku o wymiarach 180 x 70 nm). Występuje u nich otoczka lipidowa, pod nią znajduje się białko M, które otacza dopiero nukleokapsyd. Materiałem genetycznym jest ssRNA(-). Repikacja zachodzi w cytoplazmie zakażonej komórki. Gospodarzami dla rbdowirusów są kręgowce, bezkręgowce oraz rośliny.

Podział systematyczny rbdowirusów przedstawia się następująco:

Rodzina: Rhabdoviridae (Rbdowirusy)

- Rodzaj: Vesiculovirus
 - Vesicular stomatitis New Jersey virus (VSNJV), zwyczajowo wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej
- Rodzaj: Lyssavirus
 - Rabies virus (RABV), zwyczajowo wirus wścieklizny
- Inne rodzaje: Ephemerovirus, Novirhabdovirus, Cytorhabdovirus i Nucleorhabdovirus (dwa ostatnie wyłącznie roślinne)

Wścieklizna to wirusowa, zawsze śmiertelna choroba zakaźna zwierząt (niektórych ssaków), mogąca przeniesić się na człowieka (antropozoonoza).

Nazwa "wścieklizna" wywodzi się od przebiegu jednej, lepiej dostrzegalnej, z form choroby. Cechuje ją znaczne podniecenie i agresja ("wściekłość"). Wściekliznę nazywa się też czasem wodowstrętem (łac. hydrophobia), co jest odbiciem jednego z objawów choroby, mianowicie mimowolnych skurczy mięśni na widok lub sam dźwięk wody.

Wścieklizna jest chorobą wirusową spowodowaną przez Rabies virus (RABV) z rodziny Rhabdoviridae, rodzaju Lyssavirus. Występuje on w 7 biotypach, z których wszystkie są patogenne dla człowieka.

Rezerwuar zarazków stanowią zarówno ssaki dzikie (lisy, jenoty, borsuki, nietoperze, gryzonia i zajęczaki), jak i domowe (psy i koty). Druga grupa miała pierwotnie duże znaczenie, lecz obecnie ze względu na masowe szczepienia zwierząt domowych zagrożenie jest niewielkie. Do zakażenia dochodzi na drodze kontaktu bezpośredniego – przez pokąsanie lub oślinienie. Do wystąpienia choroby dochodzi u około 20% wystawionych na ekspozycję – szczególnie osobników pogryzionych na twarzy, szyi, klatce piersiowej lub pokąsanych głęboko. Odnotowano także infekcje przez przeszczepienie organów od zmarłych dawców z nierozpoznaną wścieklizną. Chorobę cechuje długi okres utajenia średnio od 1 do 3 miesięcy – skrajnie od 10 dni do ponad roku. Chory człowiek jest także zakaźny dla otoczenia.

Wirus wścieklizny atakuje komórki układu nerwowego, ze szczególnym tropizmem do komórek istoty szarej mózgu. U ludzi, w początkowym okresie (około 2 miesięcznym od chwili zakażenia) występują objawy ogólne. Dominują tu zmiany, uczucie mrowienia wokół miejsca pokąsania, a także gorączka, ból potylicy, zmęczenie oraz rzadziej halucynacje, torsje. Zwierzęta często w tym okresie – fazie inkubacji, zmieniają swoje zwyczaje głównie przez zmianę trybu życia z dziennego na nocny i vice versa, a także przestają być wrażliwe na bodźce bólowe. Po kilku dniach u ludzi i zwierząt występuje nadmierne pobudzenie lub – skrajnie, porażenie (tzw. cicha wścieklizna). U chorego stwierdzić można mimowolne skurcze mięśni (konwulsje), ślinotok oraz wodowstręt. Zejście śmiertelne następuje w około tydzień od wystąpienia objawów.

W przypadku diagnozowania człowieka wystawionego na ekspozycję w krótkim odstępie czasu większe znaczenie od potwierdzenia choroby ma ocena prawdopodobieństwa jej wystąpienia. W tym celu stosuje się głównie wywiad epidemiologiczny. Jednocześnie rozpoczyna się, jeżeli zwierzę zostało złapane: przyżyciową obserwację (trwającą 15 dni) weterynaryjną (zwierzęta domowe) lub pośmiertne badanie mózgu zwierzęcia (zwierzęta dzikie i agresywne zwierzęta domowe). Przyżyciowa diagnostyka człowieka jest możliwa (wykorzystując m.in. metodę PCR), lecz dość często pojawiają się w badaniu wyniki fałszywie ujemne. Wirus w ślinie zwierząt jest jednym z objawów ostatniego stadium wścieklizny. W przypadku psów żaden spośród tych, u których pojawił się wirus w ślinie, nie będzie żył dłużej niż 10-12 dni. Dlatego jeżeli pies przeżyje 15-dniową obserwację będzie można wnioskować, że w momencie pogryzienia wirus nie znajdował się w ślinie oraz że pies nie mógł zakażać człowieka. Pośmiertne rozpoznanie przeprowadza się używając testów serologicznych i próby biologicznej.

Do dzisiaj nieznanym jest lek przeciwko wściekliznie. Jeśli nie wystąpiły objawy choroby podejmuje się próbę zastosowania uodpornienia bierno-czynnego polegającego na podaniu surowicy i serii szczepionek podawanych w mięsień naramienny lub podskórną (dawniej szczepionkę podawano w mięsień brzucha ze względu na specyficzne ukrwienie – nie stosuje się już tej metody). Uodpornienie uzyskane na drodze biernej ochrania chorego do momentu uzyskania odporności czynnej. Chorym szczepionym wcześniej nie podaje się surowicy. Możliwość czynnego uodpornienia organizmu możliwa jest dzięki długiemu okresowi wylegania. Chorego człowieka, u którego wystąpiły objawy izoluje się głównie w celu zapewnienia mu spokoju; stosuje się

leczenie objawowe. Do tej pory odnotowano mniej niż 5 przypadków wyzdrowienia chorych ludzi, u których pojawiły się symptomy choroby. Personel opiekujący się chorym lub podejrzanym człowiekiem lub zwierzęciem obowiązują zaostrzone środki ochrony osobistej.

Dużą rolę odgrywa zapobieganie szerzeniu się choroby. Od dawna prowadzi się obowiązkowe szczepienia psów przeciwko wścieklicznie, rozrzuca się szczepionki po lasach i polach, aby dzikie zwierzęta również zaszczepić. Profilaktycznie szczepi się osoby szczególnie narażone, np. wykonujące sekcje dzikich zwierząt padłych. Przy podejrzeniu ekspozycji stosuje się szczepienia. Świadczenie szczepienia zwierzęcia nie jest wystarczające do wykluczenia wściekliczny.

PARAMYKSOWIRUSY

Paramyksowirusy (łac. Paramyxoviruses, Paramyxoviridae) to rodzina wirusów, charakteryzujących się helikalną symetrią, obecnością otoczki lipidowej oraz rozmiarami ok. 200 nm (całe wiriony są niemal sferyczne, ale mogą być też silnie pleomorficzne). Ich materiał genetyczny stanowi ssRNA(-), a replikacja zachodzi w cytoplazmie zakażonej komórki. Zakażeniu komórek towarzyszy ich zlewanie się, co daje charakterystyczne dla chorób wywołanych przez te wirusy syncytia.

Systematyka paramyksowirusów przedstawia się następująco:

Rodzina: Paramyxoviridae (Paramyksowirusy)

- Podrodzina: Paramyxovirinae
- Rodzaj: Respirivirus
 - Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1), zwyczajowo wirus paragrypy typu 1, wirus parainfluenzy typu 1
 - Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3), zwyczajowo wirus paragrypy typu 3, wirus parainfluenzy typu 3
- Rodzaj: Morbillivirus
 - Measles virus (MEV) – wirus odry
- Rodzaj: Rubulavirus
 - Mumps virus (MuV), zwyczajowo wirus nagminnego zapalenia ślinianek przyusznych (wirus świnki)
- Podrodzina: Pneumovirinae
- Rodzaj: Pneumovirus
 - Human respiratory syncytial virus (HRSV), zwyczajowo ludzki syncytialny wirus oddechowy (wirus RS)

89. Wirus świnki (Mumps Virus – MuV)

Nagminne zapalenie przyusznic, tzw. świnka (łac. parotitis epidemica, ang. mumps) to stan zapalny ślinianek przyusznych wywołanych przez wirusa świnki.

Do zakażeń wirusem dochodzi najczęściej zimą i wczesną wiosną. Rozszerza się drogą kropelkową lub przez ślinę, która może się znajdować na pożywieniu albo przedmiotach. Wirus ma małą zdolność zarażania, więc nie zawsze po kontakcie z chorym dochodzi do zachorowania. Okres wylegania wynosi 2-3 tygodni, a okres zaraźliwości zaczyna się 2-6 dni przed wystąpieniem objawów i trwa 7-9 dni po ustąpieniu.

U połowy chorych nie występują żadne objawy choroby i zakażenie można stwierdzić jedynie przez wykrycie przeciwciał we krwi. Jeżeli dochodzi do objawów to są one następujące: złe samopoczucie, gorączka, bóle głowy, bóle mięśni, obrzęk ślinianek przyusznych, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Obrzęk ślinianek powoduje ból przy otwieraniu ust i gryzieniu. Skóra nabrzmiała jest blada, lekko błyszcząca, napięta.

Najczęstszymi powikłaniami są:

- zapalenie ucha środkowego, prowadzące czasem do głuchoty,
- zapalenie trzustki,
- zapalenie jąder – może prowadzić do bezpłodności (ryzyko wzrasta wraz z wiekiem),
- zapalenie jajników,
- rzadko występują powikłania neurologiczne.

Stosuje się leczenie objawowe, obejmujące leki przeciwgorączkowe. W zapaleniu jądra i zapaleniu stawów podaje się kortykosterydy i niesterydowe leki przeciwzapalne. W zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych można podawać leki przeciwobrzękowe.

Zaleca się ochronne szczepienie (szczepionka MMR).

90. Wirus odry (Measles Virus – MEV)

Odra (łac. morbilli, ang. measles, rubeola) to wysypkowa choroba zakaźna wieku dziecięcego wywoływana przez morbilliwirus z rodziny paramyksowirusów (od pozostałych z tej rodziny różni się brakiem neuraminidazy).

Zakażenie przenosi się drogą kropelkową. Okres inkubacji wynosi około 2 tygodni. Zakaźność chorego pojawia się na 5 dni przed wystąpieniem wysypki.

W okresie prodromalnym choroby dominuje ostry ból gardła, nieżyt błony śluzowej nosa i spojówek, stan zapalny górnych dróg oddechowych. Występuje często suchy kaszel. Charakterystycznym dla odry jest pojawienie się na błonie śluzowej policzków na wysokości dolnych zębów trzonowych, białawych przebarwień tzw. plamek Koplika. Pojawia się wysoka gorączka. Po kilku dniach (do 5) pojawia się wysypka o charakterze gruboplamistym, kolorze różowym, zlewająca się. Najpierw umiejscawia się na twarzy za uszami i na czole, postępuje w dół obejmując całą powierzchnię ciała. Towarzyszy jej kaszel i wysoka gorączka. Po kilku dniach (4-5) gorączka cofa się, ustępują również objawy zapalenia gardła, wysypka zmienia kolor na ceglasty, a naskórek łuszczy się "otrębiasto".

Powikłania dotyczą głównie dzieci z niedoborami odporności, niedożywionych, z wadami serca, niemowląt. Najczęściej spotyka się:

- zapalenie płuc spowodowane nadkażeniem bakteryjnym,
- zapalenie ucha środkowego,
- zapalenie mięśnia sercowego,
- zapalenie mózgu (około 1 na 1000 zachorowań),
- podostre stwardniające zapalenie mózgu (LESS – łac. leukoencephalitis subacuta scleroticans, ang. SSPE) – pojawia się kilka lat po przebyciu choroby, związane jest z latentnym zakażeniem wirusem odry, charakterystyczne dla tego powikłania jest wybitnie wysokie stężenie przeciwciał przeciw wirusowi, objawy neurologiczne w postaci zaburzeń mowy, upośledzeniem psychicznym, niedowładami postępują doprowadzając do stanu odmóżdzeniowego – rokowanie złe,

Profilaktycznie stosuje się szczepienia dzieci atenuowanym wirusem odry. Można zastosować ludzką γ -globulinę w kilka dni po zakażeniu jeszcze przed pojawieniem się wysypki celem złagodzenia / zapobiegania chorobie.

91. Wirus różyczki (Rubella Virus – RUBV)

Wirus różyczki (Rubella virus – RUBV) należy do rodzaju Rubivirus, do rodziny Togaviridae (Togawirusy). Materiał genetyczny togawirusów tworzy ssRNA(+) o rozmiarze 10 000 – 12 000 nukleotydów. RUBV jest jedynym wirusem z rodziny Togaviridae nie przenoszonym przez stawonogi. Zawiera antygeny wiążące dopełniacz i hemaglutyninę, istnieje praktycznie tylko jeden serotyp tego wirusa. Jest wirusem wywołującym zakażenia tylko u człowieka. Namnaża się w hodowlach komórkowych wzbudzając w nich efekt cytotatyczny (CPE). Ponadto komórki uprzednio zakażone wirusem różyczki są odporne na zakażenia niektórymi innymi wirusami, na przykład enterowirusem.

Różyczka (łac. Rubella) to choroba zakaźna wieku dziecięcego wywołana przez wirus różyczki. Zapadalność na tę chorobę jest bardzo duża. Często przebiega ona bezobjawowo.

Do zakażenia dochodzi drogą kropelkową. Okres wylegania wynosi od 2 – 3 tygodni, a 7 dni przed wystąpieniem wysypki zaczyna się okres zaraźliwości, który kończy się 3-5 dni po wystąpieniu wysypki. Choroba powoduje trwałą odporność.

Pojawia się bladoróżowa wysypka, która występuje po krótkim okresie objawów nieżytowych oraz powiększeniu węzłów chłonnych. Wysypka na twarzy i tułowiu podobna jest bardzo do odrowej, jednak same objawy są mniejsze i stan chorego jest lepszy. W ciągu 2-3 dni wysypka znika i nie pozostawia żadnych śladów.

Powikłania są bardzo rzadkie, jednak choroba, która wystąpi u kobiety w ciąży (do 12 tygodnia) może spowodować bardzo poważne zmiany rozwojowe. Fetopatie spowodowane zakażeniem wirusem różyczki in utero noszą nazwę zespołu Gregga i mogą dotyczyć: układu sercowo-naczyniowego, oczu, słuchu i układu nerwowego (niska masa urodzeniowa, skaza małopłytkowa, hepatosplenomegalia, przejaśnienia przynasadowe w RTG i śródmiąższowe zapalenie płuc).

Leczenie jest objawowe. Podaje się leki obniżające temperaturę. Ewentualne zapobieganie zakażeniu stosuje się wobec kobiet ciężarnych i po ewentualnym kontakcie z wirusem podaje się γ -globulinę. Według kalendarza szczepień – szczepienie wszystkich dzieci w 13 miesiącu życia łączoną szczepionką MMR oraz dodatkowo obowiązkowemu szczepieniu przeciwko różyczce poddaje się dziewczynki w wieku 12 lat. Zalecane jest szczepienie wszystkich przyszłych matek, które nie były szczepione lub nie przechodziły różyczki, na kilka miesięcy przed planowaną ciążą, z zaleceniem minimum 3 miesięcznej skutecznej antykoncepcji po szczepieniu.

92. Wirusy wywołujące zapalenie żołądka i jelit: rotawirusy, adenowirusy, „małe okrągłe wirusy” (SRV), kalici-, korona- i astrowirusy

Wirusowe zakażenia przewodu pokarmowego mają kliniczną postać gastroenteritis lub przebiegają bezobjawowo a dotyczą przeważnie niemowląt i małych dzieci.

Wirusowe zakażenia przewodu pokarmowego są główną przyczyną biegunek w tych grupach wiekowych. Zakażenia wywoływane są przez wirusy specyficzne dla ludzi (zakażające tylko człowieka) i przenoszone są drogą fekalno-oralną.

Rotawirusy

Są grupą wirusów należących do rodziny reowirusów (Reoviridae). Nazwa rota- związana jest ich kształtem przypominającym koło (łac. rota = koło). Siedem głównych grup, z czego trzy (A, B i C) są zaraźliwe dla ludzi; grupa A jest najbardziej powszechna. Rotawirusy powodują wymioty i biegunkę i są najczęstszą przyczyną ostrej biegunki u dzieci. Najczęściej u niemowląt od 6 miesięcy do 2 lat. Posiadają genom składający się z 11 segmentów dwuniciowego RNA otoczonego charakterystycznym trzywarstwowym kapsydem.

Powodują ostry stan zapalny żołądkowo-jelitowy. Schorzenie to jest różnie nazywane – "biegunka niemowlęca", "biegunka zimowa", "grypa żołądkowa", "ostre niebakteryjne zakażenie żołądka i jelit" czy "ostre wirusowe zapalenie żołądkowo-jelitowe".

Rotawirusowe zapalenie żołądkowo-jelitowe może przyjmować postać od bezobjawowej przez łagodną do ostrej postaci z objawami wymiotów, wodnistej biegunki i słabej gorączki. Zakaźną dawkę stanowi już 10-100 wirusów. Ponieważ osoba z biegunką rotawirusową często wydalą dużą ilość wirusów, (10^8 - 10^{10} /ml kału), dawka zakaźna może być z łatwością przenoszona przez skażone ręce, przedmioty lub naczynia. Dobrze udokumentowano przenoszenie wirusa po ustąpieniu objawów, jak również przez drogi oddechowe, co może odgrywać znaczącą rolę w szerzeniu się choroby. Nie stwierdzono trwałego nosicielstwa.

Wirus zakaża komórki jelitowe (enterocyty) kosmków jelita cienkiego, prowadząc do uszkodzeń nabłonka i biegunki. Okres inkubacji wynosi 1-3 dni. Objawy często zaczynają się gorączką, nudnościami, wymiotami, po których następuje 4-8 dni biegunki, czemu towarzyszą bóle brzucha. Może zdarzyć się chwilowa nietolerancja laktozy.

Często (u połowy chorych) objawom towarzyszy infekcja dróg oddechowych. Chociaż ostra biegunka bez uzupełniania płynów i elektrolitów może prowadzić do śmierci, to zwykle następuje całkowity powrót do zdrowia. Najczęściej i najciężej chorują dzieci od 3 miesięcy do 3 lat. Noworodki i niemowlęta karmione piersią chronione są przez przeciwciała zawarte w mleku matki. Zakażenia u dzieci starszych i u osób dorosłych występują rzadziej i przebiegają łagodniej lub bezobjawowo. U osób z upośledzoną odpornością infekcja może mieć przebieg ciężki.

- Rotawirus grupy A występuje na całym globie. To główna przyczyna ostrej biegunki u niemowląt i dzieci (20% przypadków), około połowa wymaga hospitalizacji. Prawie każde dziecko do lat 5 było zakażone rotawirusem.
- Rotawirus grupy B, zwany także rotawirusową gorączką dorosłych lub ADRV.
- Rotawirus grupy C związany jest z rzadkimi przypadkami biegunki u dzieci w wielu krajach

Rozpoznanie zakażenia rotawirusowego polega na stwierdzeniu obecności antygenów wirusa w kale osoby chorej. Obecnie podstawą diagnostyki są tanie, łatwe i szybkie w wykonaniu lateksowe testy aglutynacyjne. Powszechnie stosowany na rotawirus grupy A jest test immunoenzymatyczny (EIA). Jako alternatywne rozwiązanie w stosunku do testu EIA stosuje się w wielu laboratoriach mikroskop elektronowy i elektroforezę. Do wykrywania i rozpoznawania wszystkich trzech grup rotawirusów ludzkich wykorzystuje się również reakcję odwrotnej transkrypcji łańcucha polimerazy (RT-PCR).

Przebiecie zakażenia rotawirusem powoduje powstanie w błonie śluzowej przewodu pokarmowego swoistych przeciwciał klasy IgA. Przeciwciała te chronią przed ponownym zakażeniem tym samym typem serologicznym wirusa. Możliwe są jednak zachorowania powtórne spowodowane innymi typami wirusa. Zachorowania te mają łagodniejszy przebieg. Przeciwciała obecne w surowicy nie pełnią funkcji ochronnych, dowodzą jedynie przebytego zakażenia

Brak swoistych metod leczenia, ale w 2006 roku wprowadzono dwie szczepionki przeciwko infekcji rotawirusowej, dla których badania wykazały, że są bezpieczne i skuteczne w leczeniu dzieci.

Adenowirusy

- Symetria: adenowirusy są klasycznym przykładem symetrii ikozaedralnej
 - Otoczka lipidowa: brak
 - Kwas nukleinowy: dsDNA
 - Replikacja: zachodzi w jądrze
 - Wielkość: 80 nm
 - Gospodarz: kręgowce
 - Cechy dodatkowe: z wierzchołków kapsydu wystają włókna białkowe, co nadaje wirionowi wygląd sztucznego satelity.
 - Rodzina: Adenoviridae (Adenowirusy)
- Rodzaj: Mastadenovirus (Adenowirusy ssaków)
- Human adenovirus A, B, C, D, E, F (HAdV – A, B, C, D, E, F), ludzki adenowirus A, B, C, D, E, F

Choroby wywołane przez adenowirusy dotyczą głównie oczu i układu oddechowego:

- Zakażenia dróg oddechowych u dzieci – są one często bezobjawowe, zwłaszcza w przypadku adenowirusa 2. Istnieje tutaj zależność od wieku: małe dzieci wykazują zwykle niezbyt nosa, zaś starsze – zapalenie gardła.
- Zakażenie oddechowe u rekrutów – występuje w dużych zbiorowiskach ludzkich, np. w koszarach, stąd nazwa.
- Oko stocznowca – jest to choroba oczu przenoszona za pomocą niesterylnych narzędzi medycznych.
- Choroby jelit – występują u niemowląt – może to być zapalenie jelit lub wgłobienie jelit.
- Ostre zapalenia pęcherza moczowego – występują u niemowląt.
- Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych – także u niemowląt.

Ponadto u osób otyłych jest większa częstotliwość infekcji niektórymi adenowirusami.

Kaliciwirusy

- Symetria: ikosaedralna, kształt wirionu zbliżony do kulistego, jednak na powierzchni występują 32 wgłębienia o profilu kielicha (stąd nazwa rodziny wywodząca się od łacińskiego słowa "calyx", czyli kielich), które powodują, że kształt kaliciwirusów jest dosyć charakterystyczny. Spotykane są jednak również nieliczne gatunki nie posiadające wspomnianych wgłębień
 - Otoczka lipidowa: brak
 - Kwas nukleinowy: ssRNA(+)
 - Replikacja: zachodzi w cytoplazmie zakażonej komórki
 - Wielkość: 35-39 nm średnicy
 - Gospodarz: kręgowce
 - Cechy dodatkowe: znane głównie jako wirusy zwierzęce, jednak wiadomo już, że mogą powodować także choroby u ludzi. Kaliciwirusy występują w takich organizmach jak: człowiek, bydło, świnie, delfiny, kury, gady, płazy.
 - Rodzina: Caliciviridae (Kaliciwirusy)
- Rodzaj: Vesivirus
 - Rodzaj: Lagovirus
 - Rodzaj: wirusy podobne do wirusa Norwalk
 - Norwalk virus (NV), zwyczajowo wirus Norwalk
 - Rodzaj: wirusy podobne do wirusa Sapporo
 - Sapporo virus (SV), zwyczajowo wirus Sapporo

Należy dodać, że często do tej grupy włącza się także wirusa zapalenia wątroby typu E, jednakże nie jest on sklasyfikowany w żadnym z wymienionych rodzajów, więc jego dokładna pozycja systematyczna nie jest ustalona.

Kaliciwirusy przenoszą się najczęściej drogą fekalno-oralną, ale mogą też przenosić się drogą kropelkową. Choroby wywołane przez kaliciwirusy u ludzi to przede wszystkim wirusowe zapalenie wątroby typu E oraz ostre zapalenie żołądka i jelit z objawami takimi jak wymioty i biegunka. Objawy mogą się pojawić po okresie 2 dni inkubacji i występują najczęściej przez 3 dni. Choroby biegunkowe są wywołane przez wirusa Norwalk oraz wirusa Sapporo.

Większość infekcji kalicywirusami nie wymaga szczególnej opieki medycznej, ale pacjenci z immunosupresją mogą wymagać hospitalizacji i nawodnienia.

Astrowirusy

- Symetria: ikosaedralna, charakterystyczny jest kształt wirionów, zbliżony do gwiazdki
- Otoczka lipidowa: brak
- Kwas nukleinowy: ssRNA(+), 6,8 – 7,9 tys. par zasad
- Replikacja: prawdopodobnie zachodzi w cytoplazmie zakażonej komórki, możliwe jednak, że pewne jej stadia zachodzą w jądrze komórkowym
- Wielkość: ok. 28 nm średnicy
- Gospodarz: kręgowce
- Cechy dodatkowe: prawdopodobnie bardzo szeroko rozpowszechnione w populacji ludzkiej, ale rzadko wywołują choroby

W obrębie tej rodziny wyróżniamy jeden rodzaj:

- Rodzina: Astroviridae (Astrowirusy)
- Rodzaj: Astrovirus
- Human astrovirus (HastV), zwyczajowo ludzki astrowirus

Astrowirusy ludzkie występują w postaci kilku serotypów i wywołują głównie trwające 2-3 dni choroby biegunkowe, przypominające łagodne choroby rotawirusowe.

Koronawirus

Jest rodzajem zwierzęcych wirusów należących do rodziny Coronaviridae. Koronawirus posiadają otoczkę oraz pojedynczą nić RNA o symetrii helikalnej i dodatniej polarności. Rozmiar genomu koronawirusów mieści się w zakresie od 16 do 31 kbp, co jest wartością niezwykle dużą jak na wirusy RNA. Nazwa "koronawirus" wywodzi się z łac. corona, oznaczającego koronę, jako że otoczki wirusów w mikroskopii elektronowej wydają być ukoronowanymi przez pierścień małych, przypominających żarówki struktur.

Metody stosowane w diagnostyce:

- 1) Mikroskopia elektronowa próbek kału – umożliwia wykazanie w badanym materiale wszystkich znajdujących się w nim wirusów, co niekoniecznie jest równoznaczne z wykazaniem związku przyczynowego danych wirusów z zakażeniem. Taki związek przyczynowy z chorobą jest najbardziej prawdopodobny w przypadku rotawirusów.
Bardziej użyteczne jest wykorzystanie w mikroskopii elektronowej do bezpośredniego wykrywania wirusów w próbkach kału metod immunologicznych – immunomikroskopii elektronowej. Surowica zawierająca przeciwciała swoiste dla danego wirusa (tzw. surowica odpornościowa) dodana do badanego materiału przed wykonaniem preparatu, powoduje zlepianie cząstek wirusa, dzięki czemu wirus zostaje zidentyfikowany a jego wykrycie w preparacie jest łatwiejsze. Metoda ta może być stosowana do wykrywania rotawirusów, adenowirusów i enterowirusów. Z uwagi na wysokie koszty nie jest stosowana w rutynowej diagnostyce.
- 2) swoiste testy służące do wykrywania poszczególnych wirusów:
 - Testy immunoenzymatyczne (ELISA) są najbardziej popularne i zaadaptowane do badania próbek kału. Powszechne są testy pozwalające na wykrywanie rotawirusów i adenowirusów.
 - Identyfikacja kwasów nukleinowych rota – i adenowirusów za pomocą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE).

HERPESWIRUSY

Herpeswirusy są najczęstszą przyczyną zakażeń wirusowych u ludzi. Wszystkie posiadają nukleokapsyd o symetrii kubicznej (ikozaedralnej) o średnicy ok. 100 nm. Nukleokapsyd zawiera materiał genetyczny wirusa w postaci liniowego dwuniciowego DNA (dsDNA), który jednak cykliczuje po uwolnieniu z kapsydu do jądra komórki infekowanej. Pozwala on na kodowanie około stu polipeptydów, w tym wielu enzymów. Kapsyd otoczony jest tegumentem, przyjmującym wygląd gęstszej elektronowo strefy. Tegument może być asymetryczny, a jego grubość może się wahać, w zależności od lokalizacji wirusa w komórce gospodarza. Na zewnątrz obecna jest otoczka lipidowa, pochodząca z otoczki jądrowej komórki gospodarza, rozpuszczalna w roztworach detergentów. Kompletny wirion wraz z otoczką ma średnicę 120 – 300 nm (duża rozpiętość tej wartości wiąże się z grubością tegumentu i stanem otoczki lipidowej).

Herpeswirusy pasożytują na zwierzętach (kręgowcach). Wyodrębniono ich ponad 100 gatunków, spośród czego 8 wywołuje choroby u człowieka – te oznaczono symbolami HHV-1 – 8 (human herpesvirus):

HHV-1 i HHV-2: opryszczka (HSV)

HHV-3: ospa wietrzna i półpasiec (VZV)

HHV-4: mononukleozą zakaźną i zmiany nowotworowe (EBV) (czynnik etiologiczny chłoniaka Burkitta, wykazuje powiązania z rakiem jamy nosowo-gardłowej)

HHV-5: cytomegalia (CMV)

HHV-6: rumień nagły (gorączka trzydniowa), limfadenopatia

HHV-7: nie udowodniono jego związku z żadną chorobą, być może działa wspólnie z HHV-6

HHV-8: czynnik etiologiczny mięsaka Kaposiego oraz białaczek wywodzących się z linii limfocytów B

93. Wirus opryszczki pospolitej (Herpes Simplex Virus = HSV-1 = HHV-1 oraz HSV-2 = HHV-2)

Otoczka wirusów opryszczki pospolitej jest bardzo obszerna – kompletny wirion ma średnicę 120 – 200 nm, podczas gdy nagi kapsyd wykazuje średnicę ok. 100 nm. Nukleokapsyd ma symetrię ikozaedralną, kwas nukleinowy to dwuniciowy DNA. Genom tych wirusów koduje ok. 100 polipeptydów, przy czym wiele z nich jest bardzo podobnych u obydwu gatunków, co utrudnia ich rozróżnienie w badaniach laboratoryjnych.

Wyróżnia się dwa gatunki wirusów opryszczki pospolitej:

- HHV-1 (dawniej HSV-1, herpes labialis – opryszczka wargowa)
- HHV-2 (dawniej HSV-2, herpes genitalis – opryszczka narządów płciowych)

Nazwy te odzwierciedlają tylko najczęstsze miejsca zakażenia. Zdarza się, że HSV-2 jest przyczyną opryszczki wargowej i vice versa, mimo dość dużego tropizmu poszczególnych typów do różnych tkanek.

Drogi zakażenia tym wirusem są różne i obejmują:

- bezpośredni kontakt z płynem pęcherzykowym – przeniesienie z człowieka na człowieka drogą płciową lub przez kontakt twarzy, ew. przez kontakt z zakażonymi przedmiotami,
- zakażenie drogą kontaktów płciowych przez spernę,
- zakażenia okołoporodowe – jeśli u matki w czasie porodu występują zmiany opryszczkowe narządów płciowych; zmiany u noworodka pojawiają się po 5 – 10 dniach; można zapobiec przez cięcie cesarskie,
- zakażenie wrodzone – rzadkie, ale występuje jeżeli ciężarna jest w okresie zakażenia pierwotnego; zakażenie podczas wczesnej ciąży zwiększa ryzyko małopłowia i powiększenia narządów wewnętrznych.

Po zakażeniu wirus atakuje śródbłonek naczyń krwionośnych skóry, powodując martwicę komórek naskórka oraz stan zapalny, co prowadzi do wytworzenia się pęcherzyków. Okres wylegania wynosi zwykle 5 – 6 dni. Początkowo wirus aktywnie namnaża się w zmianach pęcherzykowych skóry lub błon śluzowych, z których nie jest eliminowany. Następnie lokalizuje się w zwojach czuciowych (HSV-1 w trójdzielnym, HSV-2 w krzyżowym), gdzie pozostają w stanie utajenia (latencji). W zależności od osoby nawroty choroby występują często lub nie występują wcale; czynnikami sprzyjającymi nawrotom są: gorączka, przeziębienia, światło słoneczne, miesiączka, pewne pokarmy i stres.

Wirus HSV-1 wywołuje zazwyczaj zmiany chorobowe w rejonie ust, a HSV-2 na narządach płciowych. Opryszczkowe zapalenie jamy ustnej i dziąseł dzielimy na pierwotne i nawrotowe. W pierwotnym zmianie pęcherzykowo – wrzodziejącej są zlokalizowane w miejscu połączenia błony śluzowej i skóry w rejonie ust. Ich wystąpieniu towarzyszy wysoka gorączka i zaburzenia połykania. Osoba zdrowieje po 7 – 10 dniach. Po zakażeniu pierwotnym wirus pozostaje latentny, wywołując u niektórych osób nawrotowe zmiany chorobowe, często z towarzyszącą gorączką. Przy opryszczce narządów płciowych wyzdrowienie po zakażeniu pierwotnym jest zazwyczaj zupełne.

Do powikłań wirusowego zapalenia opryszczkowego należą:

- zapalenie mózgu – szybko postępująca choroba demielinizacyjna, z objawami obejmującymi: zmiany osobowości, ogniskowe objawy neurologiczne i półśpiączkę, prowadzącą do zgonu,
- zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zwykle łagodne,
- zapalenie rogówki pod postacią wrzodu pelzającego rogówki, który gojąc się pozostawia blizny – jeżeli te zlokalizowane są w obrębie źrenicy, może nastąpić zaburzenie widzenia,
- wyprysk kontaktowy Kaposiego – zmiany opryszczkowe w miejscach uprzednio dotkniętych wypryskiem.

Diagnostyka HSV obejmuje:

- badanie mikroskopowe zeskrabin z dna pęcherzyka → poszukiwanie komórek Tzancka (olbrzymie, wielojądrowe, z wewnątrzjądrowymi ciałami wtętowymi spychającymi chromatynę na obwód),
- hodowla w liniach komórkowych i izolacja wirusa,
- badania serologiczne – bezpośrednia immunofluorescencja lub wykrywanie IgM.

Nie powikłane przypadki opryszczki ustępują samoistnie, a leczenie przeciwwirusowe nie ma raczej wpływu na ich przebieg. Natomiast w ciężkich zakażeniach podaje się Acyklowir (ACV) lub Famcyklowir.

94. Wirus ospy wietrznej – półpaśca (Varicella-Zoster Virus = VZV)

Wirus VZV szerzy się zazwyczaj drogą oddechową, mimo iż pęcherzyki są zakaźne i możliwe jest również zakażenie przez kontakt z płynem pęcherzykowym. Dzieci wrażliwe na zakażenie, który miały bliski kontakt z pacjentem z półpaścem, mogą zachorować na ospę wietrzną.

Mechanizm powstawania pęcherzyków jest taki sam, jak w przypadku zakażenia wirusem HSV. Ospa wietrzna jest następstwem zakażenia pierwotnego; okres wylegania trwa 10 – 21 dni, zwykle 13. Półpaśiec jest wynikiem reaktywacji wirusa, który pozostaje przez całe życie utajony w zwojach czuciowych osób zakażonych wcześniej ospą wietrzną. Reaktywacje stwierdza się często przy nowotworach, w immunosupresji oraz po urazach.

Ospa wietrzna jest najczęstszą chorobą zakaźną wieku dziecięcego, cechującą się wysoką zaraźliwością. Wysypka pęcherzowa charakteryzuje się jednoczesnym występowaniem zmian chorobowych w różnych stadiach rozwoju. Początkowo powstają małe, czerwone plamki (zmiany grudkowe), następnie pęcherzyki, które pokrywają się strupkami i goją bez bliznowacenia. Liczba wykwitów może być niewielka i wówczas rozpoznanie może być trudne. Możliwe powikłania ospy wietrznej stanowią: zespół Reye'a (dzieci), olbrzymiokomórkowe zapalenie płuc (przy obniżeniu odporności), pozakaźne zapalenie mózgu lub opon mózgowo – rdzeniowych, bakteryjne zakażenia skóry, zapalenie ucha środkowego, zapalenie węzłów chłonnych.

W przebiegu półpaśca okres wylegania wynosi 7 – 14 dni. Również występuje wysypka pęcherzowa, z tym że w układzie dermatomów (charakterystyczne), najczęściej na twarzy, szyi, klatce piersiowej i tułowi. Pęcherzyki w przebiegu półpaśca mają ostro odgraniczony brzeg, w przeciwieństwie do innych zakażeń herpeswirusami. Wysypce towarzyszy ból, który może czasem poprzedzać objawy skórne (utrudnienie rozpoznania). U osób starszych neurobóle mogą się utrzymywać przez wiele miesięcy po ustąpieniu zmian

skórnych (tzw. neuralgia popółpaścowa), i mogą mieć charakter nawrotowy, nawet po wielu latach od zachorowania. Nawroty choroby występują bardzo rzadko. Półpasiec posiada kilka odmian klinicznych:

- krwotoczna – w przypadkach o ciężkim przebiegu,
- oczna – ze zmianami owrzodzenia rogówki,
- uogólniona lub rozsiana – w której oprócz typowej lokalizacji segmentalnej występują zmiany rozsiane na tułowie; najczęściej towarzyszy chłoniakom i przerzutowym rakom; inne przyczyny to: immunosupresja (HIV) i choroby metaboliczne (cukrzyca),
- zgorzelinowa – zmiany ulegają rozpadowi z pozostawieniem zgorzelinowych owrzodzeń; przebieg zazwyczaj ciężki.

O ile sam półpasiec nie należy do ciężkich schorzeń, to bardzo niebezpieczne mogą być jego powikłania, np.:

- zapalenie rogówki i błony naczyniowej oka → blizny na rogówce → ślepotą,
- porażenie nerwów okoruchowych (n. III, IV, VI), nerwu twarzowego (n. VII) lub trójdzielnego (n. V),
- częściowa utrata słuchu (porażenie nerwu słuchowego – n. VIII)
- neuralgia – podczas przebiegu półpaśca występują nerwobóle głównie okolicy lędźwiowej kręgosłupa.

Diagnostyka zakażeń VZV obejmuje: badanie mikroskopowe materiału ze zmian chorobowych i poszukiwanie w nim komórek Tzancka. Można również hodować wirusa na liniach komórkowych i izolować go.

Leczenie jest zwykle podtrzymujące. Można podawać leki przeciwgorączkowe, jednak nie salicyłany (aspiryna) ze względu na możliwość wystąpienia zespołu Reye'a. W cięższych przypadkach (zakażenie uogólnione) stosuje się Acyklowir. Dostępna jest żywa atenuowana szczepionka przeciw ospie wietrznej, która jest zalecana wszystkim dzieciom, począwszy od 1 r. ż.

95. Wirus Epsteina – Barra (Esptein – Barr Virus = EBV)

Wirus ten przenosi się przeważnie z wydzielinami z dróg oddechowych, głównie przez kontakt z jamą ustną („choroba pocałunków”). Może być także przenoszony podczas przetoczeń krwi oraz drogą płciową.

Po dostaniu się do organizmu EBV zakaża limfocyty B posiadające na powierzchni cząsteczkę CR2, stanowiącą swoisty receptor dla wirusa. Wirus pozostaje latentny przez wiele lat w limfocytach B zakażonej osoby.

Najbardziej powszechną postacią zakażenia jest mononukleozą zakaźną. U małych dzieci przebieg jest bezobjawowy. Objawy ostrej mononukleozy obejmują: ostre wysiękowe zapalenie gardła, powiększenie węzłów chłonnych (zwykle w okolicy podżuchwowej), delikatną plamisto – grudkową wysypkę, senność i umiarkowaną gorączkę po południu. Powrót do zdrowia jest wolny i mogą nastąpić nawroty objawów, powtórne zachorowania są jednak rzadkie. O zakażeniu przewlekłym mówi się, gdy objawy trzymają się ponad 6 miesięcy. EBV jest również czynnikiem etiologicznym zespołu przewlekłego zmęczenia. Wykazano ponadto związek EBV z rakiem jamy nosowo – gardłowej oraz z chłoniakiem Burkitta. Ten ostatni jest szczególnym typem chłoniaka, zlokalizowanym w tkankach miękkich otaczających żuchwę.

Do powikłań związanych z mononukleozą zaliczamy:

- pęknięcie śledziona – najpoważniejsze,
- utrudnienie oddychania (duszność ze stridorem),
- powikłania hemolityczne: ostra małopłytkowość, anemia hemolityczna, agranulocytoza, pancytopenia,
- powikłania ze strony OUN – porażenia nerwów czaszkowych (najczęściej VII), padaczka, psychozy, zespół Guillaina-Barrego, zapalenie mózgu, poprzeczne zapalenie rdzenia kręgowego
- rzadko występuje: zapalenie mięśnia sercowego, zapalenie trzustki, zapalenie jąder.

Diagnostyka mononukleozy zakaźnej obejmuje: morfologię i rozmaz krwi oraz badania serologiczne (test aglutynacji szkiełkowej i testy z użyciem swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom wirusa: VCA, EA, EBNA).

Leczenie zakażenia jest objawowe (leżenie w łóżku, leki przeciwbólowe, przeciwgorączkowe, dieta bogata w witaminy). W przypadkach z nasiloną obturacją górnych dróg oddechowych, małopłytkowości, powikłań neurologicznych stosuje się kortykosteroidy. Nie ma szczepionki przeciwko tej chorobie.

96. Wirus cytomegalii (CytomegaloVirus = CMV)

Wirus cytomegalii szerzy się drogą oddechową i płciową, możliwe są zakażenia okołoporodowe (przy przejściu noworodka przez kanał rodny zakażonej matki) oraz wrodzone. Zakażenia wrodzone mają ciężki przebieg, zwłaszcza gdy do zakażenia doszło w I trymestrze ciąży. CMV zwiększa ryzyko zapalenia naczyń i siatkówki, wodogłowa ze zwapnieniami okołokomorowymi, hepatosplenomegalii.

CMV jest szeroko rozpowszechnionym wirusem, powodującym niewielkie objawy lub ich brak u zdrowych osób dorosłych, natomiast bardzo niebezpiecznym w sytuacji nie rozwinięcia lub osłabienia układu odpornościowego. Leukocyty wielojądrzaste, monocyty, limfocyty B i komórki nabłonkowe mogą być zakażone

latentnie. Zakażenie pierwotne przebiega zazwyczaj bezobjawowo, a objawy pojawiają się najczęściej w określonych stanach klinicznych, tj.:

- Po przetoczeniu krwi lub transplantacji narządu – u niektórych pacjentów rozwija się zespół mononukleozopodobny. Przy współistniejącej upośledzonej odporności zakażenie może się uogólnić i zagrażać życiu.
- W immunosupresji – CMV wykrywa się u 90% pacjentów z upośledzoną odpornością. Zakażenie może objawiać się: gorączką, zapaleniem płuc, przelyku, jelit, wątroby, siatkówki, jagodówki. Wirus wykazuje tropizm do nerek, przez co może skrócić okres funkcjonowania przeszczepionej nerki.
- Poród – noworodki są szczególnie podatne na zakażenie z powodu niedojrzałości układu odpornościowego. Szacuje się, że 1% noworodków rodzi się zakażonych. Przetoczenie zainfekowanej krwi może spowodować uogólnione zakażenie, w tym: zapalenie wątroby, płuc, zakażenia oczu i zajęcie OUN. U noworodków zakażonych bezobjawowo mogą się później rozwijać: autyzm, zaburzenia osobowości i łagodne zaburzenia psychiczne.

Diagnostyka cytomegalii obejmuje:

- badanie w mikroskopie świetlnym rozmazów osadu moczu i biopłatów nerek w poszukiwaniu wtretów typu „sowie oczy”,
- hodowla i izolacja wirusa, najczęściej z moczu,
- badania serologiczne – zastosowanie zestawu TORCH.

Lekami z wyboru są Gancyklowir i Foskarnet – wskazane zwłaszcza u pacjentów z obniżoną odpornością.

97. Papillomawirusy, gl. wirus brodawczaka ludzkiego (Human Papilloma Virus = HPV)

Papillomawirusy, których najważniejszym przedstawicielem jest HPV, to bezosłonkowe wirusy DNA, mające zdolność transformowania komórek in vitro. Posiadają średnicę ok. 55 nm i wykazują symetrię ikozaedralną. Materiał genetyczny papillomawirusów stanowi kolisty dsDNA (ok. 8000 bp), a replikacja zachodzi w jądrze komórki zakażonej. Wirusy te pasożytują na kręgowcach, wykazując tropizm do skóry i błon śluzowych. Dotychczas zidentyfikowano ponad 60 odrębnych genotypów. Papillomawirusy są bardzo trudne w hodowli ze względu na zdolność namnażania się jedynie w różnicującym się nabłonku wielowarstwowym płaskim.

Zakażenia papillomawirusami występują powszechnie i często są bezobjawowe. Przenoszą się one w wyniku kontaktu skórno – zakażają miejsca niewielkich otarć naskórka, są przekazywane drogą płciową i jako zakażenia okołoporodowe.

Obraz kliniczny zależy od interakcji między typem wirusa, umiejscowieniem zakażenia i skutecznością mechanizmów przeciwwirusowej obrony gospodarza. Postaci kliniczne zakażeń obejmują:

- Brodawki skórne – mogą pojawiać się wszędzie, ale najczęściej na rękach, i to u dzieci i młodzieży. U osób z zaburzeniami odporności może nastąpić uogólniony rozsiew brodawek. Większość łagodnych przypadków cofa się samoistnie, jednak ze względów estetycznych usuwa się je chemicznie (salicylany, jodyna, formalina, aceton) lub fizycznie (wysokie i niskie temperatury). Często są nawroty choroby.
- Brodawki narządów płciowych – okres inkubacji waha się od kilku tygodni do miesięcy. Czasem dochodzi do powstania minimalnych, ale i tak zakaźnych zmian, czasem natomiast zakażenie przyjmuje formę kłykcin kończystych (condyloma acuminatum). Brodawki mogą być leczone z użyciem laserów, niskich temperatur, farmakologicznie (IFN- α) oraz chirurgicznie.
- Rak szyjki macicy może rozwijać się u kobiet z brodawkami narządów płciowych. HPV 16 i 18 odpowiada aż za 2/3 przypadków raka szyjki.
- Brodawki krtaniowe – występują rzadko, najczęściej u dzieci do 5 r. ż. i są skutkiem okołoporodowego przeniesienia wirusa. U dzieci rozwijają się brodawki strun głosowych, uniemożliwiające z czasem mówienie i oddychanie. Leczenie operacyjne nie zawsze jest skuteczne (brodawki odrastają), samo w sobie stanowi zresztą ryzyko trwałego uszkodzenia strun.
- Epidermodysplasia verruciformis – bardzo rzadka, cechuje się licznymi, polimorficznymi zmianami brodawkowymi na całym ciele pacjenta, z tendencją do zlewania. W 1/3 przypadków ze zmian wywodzą się ogniska transformacji nowotworowej, przekształcające się w raka płaskonabłonkowego o powolnej progresji, bez tendencji do przerzutów.

choroba	genotypy wirusów
brodawki skórne	1, 2, 4, 10
brodawki narządów płciowych (w tym kłykciny kończyste)	6, 11, 16, 18, 31
Epidermodysplasia verruciformis	3, 8
Rak szyjki macicy	16, 18, 31, 33, 35
Brodawki krtaniowe	6, 11

Obecnie najskuteczniejszą metodą profilaktyki zakażeń HPV jest wykonywanie regularnie badania cytologicznego, które pozwala na odpowiednio wczesne wykrycie zmienionych komórek. W przypadku obecności zmienionych komórek w preparacie mikroskopowym, wskazane może być wykonanie badania PCR, które z dużą czułością wykrywa DNA wirusa, a także pozwala na określenie typów HPV w materiale (typowanie HPV). Od XI 2006r. w Polsce jest dostępna szczepionka (Silgard®) skierowana przeciwko najpopularniejszym typom HPV wywołującym kłykciny kończyste (HPV 6 i 11) oraz raka szyjki macicy (HPV 16 i 18).

98. Pokswirusy, gl. wirus ospy prawdziwej (Variola Vera Virus = VARV)

Pokswirusy to złożona grupa wirusów, obejmująca największe wirusy zwierzęce. Pokswirusy cechują się złożoną symetrią, ich kształt zależy od rodzaju, są jednymi z najbardziej skomplikowanych pod względem budowy wirusów. Czasem, ale nie zawsze, posiadają osłonkę lipidową. Dzięki wielowarstwowemu płaszczowi z dużą zawartością białek są stosunkowo odporne na czynniki dezynfekcyjne i antyseptyczne. Mają kształt cegiełek lub owalny, rozmiary ok. 270 x 300 nm, dzięki czemu mogą być dostrzeżone w mikroskopie świetlnym. Materiał genetyczny stanowi liniowy dsDNA o kowalencyjnie związanych końcach, na których znajdują się ITR (inverted terminal repetitions – odwrócone sekwencje powtórzone). Cały ich cykl replikacyjny zachodzi w cytoplazmie (w przeciwieństwie do pozostałych DNA-wirusów), a ponieważ nie wnikają do jądra, tworzą ciała wtrętowe w cytoplazmie (ciała Guarneriego). Ich wiriony zawierają kilkanaście aktywności enzymatycznych, m. in. własną DNA-zależną polimerazę RNA oraz ligazę DNA. Pokswirusy dzielą się na ortopokswirusy, parapokswirusy oraz pokswirusy niesklasyfikowane. Atakują ludzi i zwierzęta, wywołując przede wszystkim zmiany pęcherzykowe.

Ortopokswirusy wywołują niewielką ilość chorób, z których najpoważniejszą jest ospa prawdziwa (czarna ospa). Obecnie ospa zupełnie już nie występuje – to pierwsza świadomie wytepliona choroba; wirus przechowywany jest w 2 laboratoriach na świecie w bankach mikroorganizmów. Była to umiarkowanie zakaźna choroba wysypkowa o dużym współczynniku śmiertelności. Sugerowano istnienie dwóch szczepów wirusa: jeden wywoływał variola major (50% śmiertelności), drugi zaś variola minor (alastrim, 1%). Największe znaczenie w przenoszeniu miała droga kropelkowa oraz fizyczny kontakt z chorym i dotykany przez niego przedmiotami. Po zakażeniu wirusy wędrują do okolicznych węzłów chłonnych, skąd po kilku dniach zakażenia rozszerza się na pozostałe węzły chłonne, śledzionę i szpik. Po 12-dniowym okresie inkubacji u chorego pojawiały się objawy prodromalne (gorączka, bóle mięśniowe, złe samopoczucie). Pojawiała się wysypka pęcherzykowa, a zmiany charakteryzowały się tym, że wszystkie jednocześnie przechodziły dane stadium rozwojowe oraz były rozmieszczone odśrodkowo (były najliczniejsze na twarzy i kończynach). Z czasem zmiany strupiały i pozostawiały trwale blizny. U osób dotkniętych variola major rozwijały się groźne powikłania, włącznie z zapaleniem mózgu i postacią krwotoczną, związaną z DIC, krwawieniem ze śluzówek i ogólną toksemią. Rozpoznanie potwierdzały obserwacje mikroskopowe w poszukiwaniu ciałek wtrętowych. Nie odkryto skutecznej terapii ospy wietrznej, stosowano jedynie leczenie objawowe. W 1796 r. brytyjski lekarz Edward Jenner wynalazł szczepionkę przeciwko ospie (była to pierwsza szczepionka, zarazem jedyna w historii, w której podawano żywe i w pełni wirulentne wirusy krowianki). Szczepionkę podawano metoda skaryfikacji: 15-krotne szybko nakłuwając skórę skaryfikatorem lub igłą poprzednio zanurzoną w szczepionce. Między 4. a 14. dniem w miejscu szczepienia pojawiały się grudki, pęcherzyki i wkłęsłe krosty (w tej kolejności). Okres ten przebiegał z gorączką i lokalnym powiększeniem węzłów chłonnych. Obecnie szczepienia przeciw ospie (szczepionka Dryvax®) nie znajdują się w kalendarzu szczepień obowiązkowych od 1980 r.

Ponadto ortopokswirusy wywołują ospę krowią czyli krowiankę (nie jest ona niebezpieczna dla człowieka, stosowana była jako szczepionka przeciw ospie prawdziwej) oraz ospę małpą. Parapokswirusy wywołują głównie choroby zwierząt, które mogą jednak przenosić się na ludzi. Należą tu: rzekoma ospa krowia (guzy dojarek) oraz zakaźne krostkowe zapalenie skóry (ospa owcza, niesztowica wirusowa). Niesklasyfikowane pokswirusy wywołują mięczaka zakaźnego – chorobę przenoszoną drogą płciową, charakteryzującą się samoistnie zanikającymi zmianami grudkowatymi.

99. Wirus Ebola

Należy do rodziny Filoviridae (filowirusy). Są to wirusy o wydłużonym kształcie, z osłonką, z RNA i z helikalną symetrią nukleokapsydu.

Wirus przenosi się drogą oddechową i przez kontakt bezpośredni. Namnaża się w komórkach pochodzenia małpiego, jest patogenny dla świnek morskich. Człowiek jest zakażony tylko ubocznie; jeśli jednak wirus zaatakuje człowieka, to staje się on wysoce zakaźny dla innych. Wywołuje on gorączkę krwotoczną. Głównym czynnikiem w patogenezie jest zaburzona czynność płytek krwi.

Objawy kliniczne różnicowane ze strony układu pokarmowego, oddechowego z towarzyszącą wysypką, doprowadzającą do wyniszczenia, uszkodzenia wątroby, śledziony i ośrodkowego układu nerwowego. Często

dochodzi do wstrząsu z powodu objawów krwotocznych lub stanów letargicznych. Wirus może być wykrywany w wydzielinach i wydalinach chorego oraz w surowicy w okresie ostrym choroby.

Pierwsze zachorowania u ludzi wystąpiły w 1976 w Sudanie i Zairze, gdzie śmiertelność wynosiła od 5% do 90% wśród chorych i 50% wśród personelu medycznego.

Przypadki zakażeń podlegają zgłoszeniu do WHO.

100. Wirusy Hanta / Hantaan

Należą do rodziny Bunyawirusów. Zazwyczaj zakażają małe ssaki lub ptaki (rezerwuar) i są przenoszone od zwierząt do zwierząt przez kleszcze, komary (wektor). Człowiek jest przypadkowym gospodarzem.

Cząstki wirusa są kuliste, mają płaszcz; jednoniciowy, podzielony na 3 segmenty ujemny RNA, oraz 2 glikoproteiny swoiste dla wirusa, związane ze składnikami otoczki wirionu. Replikacja wirusa przebiega w cytoplazmie zakażonych komórek, a w morfogenezie można wyróżnić pączkowanie, głównie do cystron Golgiego. Wykazują swoistość antygenową i charakterystyczny skład oligonukleotydów z RNA.

Wirus Hantaan jest czynnikiem etiologicznym gorączki krwotocznej z objawami nerkowymi. W przebiegu zakażenia występują: gorączka, bóle lędźwiowe i brzuszne, białkomocz, objawy krwotoczne, niewydolność nerek, osłabienie. Czas wylegania choroby wynosi 2-3 tygodnie. Wyróżnia się postać łagodną, podostrą, ostrą. Formy łagodne i podostre mogą być podobne do leptospirozy. W stanach ostrych i o przebiegu ciężkim śmiertelność wynosi ok. 5-20%.

Ponad 2 tys. przypadków tej gorączki rozpoznano u żołnierzy podczas wojny koreańskiej. Również szczury laboratoryjne bywały przyczyną wybuchu epidemii gorączki w instytutach naukowych.

Wirusy te (szczep Sin Nombre) powodują zespół płucny, który charakteryzuje się zespołem ostrej niewydolności oddechowej. Spotykany najczęściej w Indiach i zachodnich stanach USA. Współczynnik śmiertelności wynosi 52%. Głównym rezerwuarem są myszy, nie udokumentowano przenoszenia z człowieka na człowieka.

101. Wirus gorączki Lassa

Należy do grupy Arenawirusów zakażających gryzonia i ludzi. Wiriony arenawirusów są okrągłe lub pleomorficzne, z osłonką. Wirusowy RNA jest segmentowany, o pojedynczej nici i ujemnej polarności. Zawierają agregaty rybosomów pochodzących z komórki gospodarza, które pojawiają się w wirusie podczas procesu pączkowania. Rola agregatów nie jest znana.

Arenawirusy wywołują stan przewlekłego nosicielstwa u gryzoni, ich naturalnych gospodarzy. Przenikanie wirusów przez łożysko pomaga w szerzeniu się zakażeń. Wirusy można wyizolować z moczu, krwi i narządów zakażonych.

Na ludzi mogą przenosić się drogą wziewną lub przez kontakt z przedmiotami zakażonymi wydaliniami chorych gryzoni.

Wirus Lassa wyizolowano po raz pierwszy z wiosce Lassa w Nigerii. Może się szerzyć z człowieka na człowieka. Częste bywają zakażenia bezobjawowe. Wirus wywołuje epidemie o wysokim współczynniku śmiertelności (36-67%), przyczyna epidemii nie jest znana.

Choroba charakteryzuje się wysoką gorączką, owrzodzeniami w jamie ustnej, silnymi bólami mięśni, krwotoczną wysypką skórna, zapaleniem płuc, zaburzeniami czynności serca i nerek.

102. Enterowirusy (poliowirusy)

Należą do Pikornawirusów. Są to wirusy kwasooporne, zakażające przewód pokarmowy, optymalna temperatura replikacji wynosi 37°C. Są stabilne w niskim pH, nie unieczynnia ich kwaśne środowisko żołądka.

Podstawowym sposobem przenoszenia jest droga fekalno-oralna.

Do chorobotwórczych dla człowieka zalicza się:

- poliowirusy typy (1-3)

Nagminne porażenie dziecięce, ostre zapalenie rogów przednich rdzenia, choroba Heinego – Medina) – ostra choroba zakaźna, która w swojej ciężkiej postaci uszkadza OUN.

Obecnie choroba wygasła, przyczyniły się do tego powszechne, skuteczne szczepienia.

Aby wirus polio mógł wnikać do komórki, musi ona posiadać na powierzchni receptory błonowe, które są swoiste dla naczelników. Istnieją 3 typy antygenowe wirusa. W preparacie wirusa można wykryć 2 typowo swoiste antygeny. Jest to antygen N-natywny – pełne cząstki wirusa, oraz H- puste kapsydy. Wrota zakażenia stanowi jama ustna. Wirus występuje regularnie w gardle i kale przed wystąpieniem objawów choroby. Przeciwciała pojawiają się zwykle przed wystąpieniem porażenia. Wirus najpierw namnaża się w migdałkach, węzłach chłonnych szyi, grudkach chłonnych jelita cienkiego. OUN zostaje zaatakowany przez wirusy

znajdujące się we krwi. Wirusy mogą przenikać wzdłuż aksonów nerwów obwodowych w kierunku OUN, stopniowo zajmując rdzeń lub mózg. Najsilniej uszkodzone są rogi przednie rdzenia. W mózgu zajęty zostaje twór siatkowaty, jądra przedsińka, głębokie jądra mózdzku. Niekiedy stwierdza się zapalenie mięśnia sercowego, rozrost układu limfatycznego, owrzodzenie grudek chłonnych jelita, powiększenie węzłów chłonnych.

Okres inkubacji trwa zwykle od 7-14 dni.

Większość zakażeń poliovirusami to zakażenia bezobjawowe.

Poronna postać – lekki przebieg, gorączka, złe samopoczucie, bóle głowy, nudności, wymioty, zaparcia, bóle gardła. Rozpoznanie możliwe gdy wyizoluje się wirusa lub wykaże wzrost swoistych przeciwciał.

Bezporażenna postać (jałowe lub aseptyczne zapalenie opon m-r)-poza wyżej wymienionymi, sztywność i bolesność karku i szyi. Choroba trwa zwykle 2-10 dni i kończy się szybkim i pełnym wyzdrowieniem.

Porażenna postać występuje u ok. 0,1%

- postać rdzeniowa – porażenie wiotkie, proces chorobowy dotyczy neuronów ruchowych. Porażenie jest zwykle asymetryczne, częściej dotyczy mięśni proksymalnych niż dystalnych i kończyn dolnych niż górnych. Porażony mięsień w końcu zanika. Rzadko ma miejsce utrata czucia.
- postać opuszkowa – dotyczy podstawy mózgu, postać groźniejsza, dochodzi do zajęcia ośrodka oddechowego i krążenia w rdzeniu, co upośledza funkcje życiowe, częstsza u dorosłych.
- postać opuszkowo – rdzeniowa – proces chorobowy obejmuje opuszkę i rdzeń, rokowania nie pomyślne.

Zapalenie mózgu – rzadko, ale kończy się zgonem

Zespół poporażenny – występuje u osób, które w młodości przeżyły poliomyelitis. Po 25-35 latach pojawia się zmęczenie, ból, osłabienie i zanik mięśni. Dotyczy tych samych mięśni, które były zaatakowane podczas pierwotnego epizodu. Choroba postępuje powoli i zwykle nie prowadzi do inwalidztwa.

W każdym podejrzanym przypadku wirus musi być wyizolowany i scharakteryzowany. Stwierdzenie w badaniu serologicznym IgM w płynie m-r lub krwi jest dowodem zakażenia.

Izolacja wirusa w hodowli komórkowej ma podstawowe znaczenie dla określenia czy chorobę wywołał „dziki” typ czy szczepionkowy, który uległ rewersji do formy wirulentnej.

Dostępne są 2 szczepionki – zabita (Salka) i atenuowana (Sabina).

Wirusy zabite nie kolonizują nabłonka jelit i wywołują tylko ogólnoustrojową odpowiedź immunologiczną. Jest podawana parenteralnie.

Szczepionka atenuowana podawana jest doustnie. Jest to sposób prostszy i przydatny do szczepień masowych. Indukuje zarówno odporność miejscową (proliferaacja wirusa w nabłonku jelit) jak i ogólnoustrojową (rozprzestrzenianie się wirusa do krwi).

- wirus Coxsackie A (24 serotypy) i Coxsackie B (6 serotypów)

Morfologicznie podobne do poliovirusów. Zostały podzielone na 2 typy na podstawie objawów chorobowych.

W każdym typie wyodrębniono wiele szczepów.

Zakażenia najczęściej u małych dzieci.

Bezobjawowe stanowią ok. 90% zakażeń wirusami Coxsackie.

Zakażenia górnych dróg oddechowych (tzw. przeziębienie) oraz choroby, których jedynym objawem jest gorączka.

Aseptyczne (jałowe) zapalenie opon m-r oraz zapalenie opon m-r i mózgu

Choroby typowe dla poszczególnych szczepów

- wirus Coxsackie A wywołuje:

- biegunkę niemowląt,
- zapalenie opryszczkowe gardła charakteryzujące się występowaniem w tylnej części gardła owrzodzeń zespół dłoni, stóp i ust chorobę ustępującą samoistnie, charakteryzującą się owrzodzeniami ust, błony śluzowej policzków, dłoni i stóp

- wirus Coxsackie B wywołuje:

- zapalenie mięśnia sercowego i zapalenie osierdzia u młodych dorosłych (łudząco przypomina zawał),
- wieloukładową chorobę noworodków charakteryzującą się zapaleniem mięśnia sercowego, mózgu, wątroby i kory nadnerczy,
- pleurodynię (choroba bornholmska) czyli bolesne zapalenie mięśni międzyżebrowych i opłucnej zwykle z gorączką.

Leczenie jest objawowe, brak szczepionek zapobiegających.

- wirusy ECHO (34 serotypy)

Wirusy ECHO (jelitowe ludzkie cytopatogenetyczne wirusy sieroce) mają wspólną cechę – zakażają jelito, gdzie osiedlają się przejściowo. Występują na całej kuli ziemskiej, częściej znajduje się je w organizmie ludzi młodych niż starszych. Wirusy te szerzą się łatwo, częstość zakażeń jest duża wśród osób, u których nie wytworzyły się przeciwciała przeciwko entrowirusom w wyniku wcześniejszych ekspozycji.

Podobnie jak inne enterowirusy powodują zakażenia górnych dróg oddechowych oraz choroby, których jedynym objawem jest gorączka.

Aseptyczne zapalenie opon m-r daje objawy takie jak nudności wymioty, bóle głowy, są one umiarkowanie nasilone i chory zachowuje przytomność.

Porażenie wstępujące i zapalenie mózgu podobne do występującego w poliomyelitis lub zapalenie mózgu, jednak rzadkie.

Wysypka odro-podobna często występuje przy zakażeniach enterowirusami.

Wirusowe zapalenie opon m-r ustępuje samoistnie. Leczenie jest w istocie leczeniem objawowym, ale konieczne należy wykluczyć inne przyczyny zapalenia.

- „nowe” enterowirusy (szczepy o serotypach 68-72)

Większość tych wirusów nie ma znaczenia z medycznego punktu widzenia., wyjątek stanowią typy 70 i 72.

Pozostałe mogą powodować wysypkę czy zapalenie opon m-r.

- enterowirus typu 70

Choroba występuje najczęściej na Bliskim Wschodzie oraz innych krajach trzeciego świata, gdzie

powszechne jest przeludnienie. Wirus przenoszony jest przez bliski kontakt, a nie drogą fekalno-oralną.

Wywołuje ostre, krwotoczne zapalenie spojówek. Choroba zwykle ustępuje samoistnie, nie pozostawiając trwałych uszkodzeń, wyjątkowo może rozwinąć się zapalenie rogówki prowadzące do ślepoty.

- enterowirus typu 72

Jest to wirus zapalenie wątroby typu A (HAV), który niedawno został sklasyfikowany jako enterowirus.

103. Wirusy powolne (lentowirusy)

Lentowirusy – wirusy powolne – to podrodzina retrowirusów, do której do niedawna zaliczano tylko wirusa visna owiec, wirusa niedokrwiistości zakaźnej koni i wirusa zapalenia stawów i mózgu kóz. Wirusy powolne wywołują przewlekłe choroby u swoich naturalnych gospodarzy. Każdy z nich wywołuje stany zapalne mózgu. Wirus visna powoduje przewlekłe śródmiąższowe zapalenie płuc podobne do występującego w AIDS i u małych dzieci. Choroby cechuje zmienność okresów pogorszeń i poprawy. Częste są przypadki nosicielstwa, w których zwierzęta, nie wykazując objawów choroby, przekazują wirusy innym. Wirusy powolne mogą przetrwać w organizmie unikając działania układu odpornościowego. Mogą przechodzić barierę krew-mózg, niszczyć tkankę mózgową i pozostawać w organizmie w przewlekłym stanie bezobjawowym (okres przed pojawieniem się objawów klinicznych) przez długi czas. HIV jest wirusem powolnym wywołującym zaburzenia psychiczne u około 70-80% pacjentów; u nich dochodzi do otępienia w końcowym okresie zakażenia.

Wg innej koncepcji wirusy powolne to wirusy (lub elementy ich materiału genetycznego), które pozostają w komórkach człowieka po przebyciu choroby wirusowej. Stan taki może trwać przez wiele lat, po czym zakażenie może się ujawnić w postaci innego schorzenia. Znany jest np. związek pomiędzy przebytą przed laty grypą (myksowirus) a stwardnieniem rozsianym, podobnie jak między wirusem odry a podostym stwardniającym zapaleniem mózgu (SSPE).

104. Priony i choroby prionowe

Prion (ang. prion, od proteinaceous infectious particle – zakaźna cząsteczka białkowa) to samopowielająca się struktura proteinowa. Nie zawiera ona żadnego kwasu nukleinowego ani nie wykazuje metabolizmu. Termin "prion" został wprowadzony w 1982 r. przez Stanleya B. Prusiner (za badania nad prionami i sformułowanie rewolucyjnej teorii, że białka miałyby mieć charakter infekcyjny, otrzymał on Nobla). W tym samym roku wykryto białko prionu (PrP) i stwierdzono korelację między ilością białka a infekcyjnością materiału zakaźnego. Fizjologicznie białko kodowane przez gen PRNP jest niezbędne w funkcjonowaniu nie poznanych jeszcze procesów u ludzi i zwierząt wyższych (najprawdopodobniej reguluje stężenie wapnia w neurocytach, wpływa na cykl życiowy i sen, bierze udział w procesach uczenia się i zapamiętywania, chroni przez stresem oksydacyjnym – jest przeciwutleniaczem). Porównanie cząsteczek białek PrP obecnych w tkankach w warunkach fizjologii i w patologii dowiodło, że mają one identyczną strukturę pierwszorzędową, ale różnią się strukturą drugorzędową, co wiąże się z odmiennymi właściwościami fizykochemicznymi. Fizjologiczne białko PrP^C (C – cellular) posiada 3 α -helisy i 2 β -nici, jest rozpuszczalne w wodzie i denaturujących detergentach, natomiast patogenne PrP^{Sc} (SC – scrapie) zawiera przewagę struktury β -kartki, a ponadto jest nierozpuszczalne w wodzie, co uniemożliwia dalsze badania (MRS). Białko PrP^{Sc} wpływa na cząsteczki białka PrP^C, zmieniając ich konformację i zaburzając procesy, w których priony fizjologicznie biorą udział.

Priony powodują choroby układu nerwowego, nazwane od nich chorobami prionowymi (inaczej zakaźne lub pasażowalne encefalopatie gąbczaste – ang. transmissible spongiform encephalopathies = TSE). Do grupy tej należą schorzenia owiec i bydła (scrapie = kołowaczna owiec, choroba szalonych krów = encefalopatia gąbczasta bydła – BSE) oraz człowieka (kuru = śmiejąca się śmierć, choroba Creutzfeldta – Jakoba – CJD,

śmiertelna bezsenność rodzinna – FFI, choroba Gertsmana – Straüsslera – Scheinkera – GSS). Choroby te charakteryzują się długim okresem utajenia, zmianami w układzie nerwowym (encefalopatia) o wyglądzie przypominającym gąbkę (w mózgu i mózdzku powstają wakuole) i braku odpowiedzi ze strony układu odpornościowego. Zakażenia u człowieka odbywa się według następującego mechanizmu: zjedzenie zakażonego mięsa → przedostanie się wraz z krwią do mózgu białek PrP^{Sc} → białka PrP^{Sc} wymuszają zmianę konformacji przestrzennej białek PrP^C → chora komórka po pewnym czasie zostaje rozerwana, a PrP^{Sc} uwolnione → następuje zakażenie kolejnych komórek, aż do śmierci człowieka.

- Kuru ("śmiejąca się śmierć") to zawsze śmiertelna choroba prionowa, pierwsza TSE opisana u ludzi. Odkryta została w 1957 r. przez D. C. Gajduska, który otrzymał za swe prace Nobla w 1976 r.; kuru przestała występować po 1959 roku. Do zakażenia dochodziło u dopuszczających się kanibalizmu członków plemienia Fore z Papui Nowej Gwinei. Czynniki patogenne przenikały przez skórę i spojówki, w wyniku rytualnego nacierania twarzy ludzkimi mózganami. Po około 20. latach inkubacji pojawiały się pierwsze objawy. W okresie prodromalnym choroby pojawiają się bóle głowy, brzucha i kończyn, zwłaszcza stawów. Może pojawić się utrata masy ciała. Przebieg choroby można podzielić na trzy fazy: I, w której chory może jeszcze chodzić; fazę II, w której chory jest w stanie tylko siedzieć; fazę III, terminalną, w której chory leży bezsilnie. W przebiegu kuru pojawia się zawsze ataksja mózdkowa, która stopniowo postępuje, doprowadzając do śmierci. W przeciwieństwie do innych chorób prionowych, w jej przebiegu prawie nigdy nie występuje ośpienie, a o ile się pojawia to dopiero w fazie terminalnej. Ataksji towarzyszą drżenie, ruchy mimowolne (o typie ruchów płasawicznych lub atetotycznych), nie trzymanie kału i moczu. Pojawiają się prymitywne odruchy, np. ssania, gryzienia, chwytania. Charakterystyczne są zmiany nastrojów: od depresji do euforii, a także przymusowy płacz bądź śmiech.
- Choroba Creutzfeldta – Jakoba, CJD – śmiertelna i nieuleczalna choroba ośrodkowego układu nerwowego. Priony uruchamiają cały łańcuch zdarzeń, zachodzących w neuronach, prowadzących do powstania uszkodzeń mózgu. W 1996 roku wykryto nowy wariant choroby, będący wynikiem przeniesienia BSE z bydła na człowieka. Występowanie tej postaci choroby jest związane ze spożywaniem pokarmów wołowych skażonych prionami. Częstość występowania nowego wariantu CJD nie jest duża i stanowi ok. 1 przypadek rocznie na 1 mln osób. Jak dotąd wykrywano go zwłaszcza u ludzi młodych. Wyróżniamy cztery rodzaje CJD: sporadyczna (sCJD), rodzinna (fCJD), wariant (vCJD), jatrogena (jCJD). Ostatnia postać wiąże się z zabiegami neurochirurgicznymi – użyciem elektrod mózgowych, przeszczepem rogówki i opony twardej, czy nawet leczeniem wyciągami z przysadki mózgowej.
- Śmiertelna bezsenność rodzinna (ang. fatal familial insomnia – FFI) – choroba mózgu dziedziczona AD. Odpowiedzialny za nią gen został wykryty u zaledwie 28 rodzin na świecie. Geneza choroby oraz jej rozwinięcie w całkowitą niezdolność do snu jest nieuleczalne i zawsze prowadzi do śmierci. Choroba została po raz pierwszy wykryta przez włoskiego lekarza Ignazio Roitera w 1979 r., który stwierdził u dwóch kobiet z jednej rodziny śmierć, jakby się zdawało, spowodowaną bezsennością. Historia rodziny wykazała więcej podobnych przypadków śmierci. Gdy następny członek tejże rodziny zachorował w 1984 r., jego przypadek został dokładnie przeanalizowany, a po jego śmierci, jego mózg został przesłany do USA w celu przeprowadzenia dalszych badań. Pod koniec lat 90. wykazano, że FFI powoduje prion posiadający mutację Asn → Asp, która zmienia kształt cząsteczki białka i powoduje zmiany w kształcie kolejnych, zdrowych protein w mózgu. Powoduje to zmiany we wzgórzu, odpowiedzialnym za regulację snu. Rezultatem tego jest bezsenność oraz późniejsze poważniejsze problemy. Wiek wystąpienia choroby jest różny, rozciągający się od 30 do 60 roku życia (średnio w 50 roku życia). Śmierć następuje zwykle pomiędzy 7 a 36 miesiącem od wystąpienia objawów choroby. Ujawnienie się choroby zależy od konkretnego pacjenta; różni się nawet między członkami tej samej rodziny. Choroba ta ma 4 stadia rozwoju: I – pacjent cierpi na nasilającą się bezsenność skutkującą atakami paniki oraz fobiami, II – halucynacje oraz ataki paniki stają się bardziej zauważalne, III – całkowita niezdolność do snu pociągająca za sobą szybką utratę masy ciała pacjenta, IV – demencja, niekontaktowność lub niemota jest ostatnią fazą choroby po której pacjent umiera. Nie jest znane żadne skuteczne postępowanie wobec FFI.

DIAGNOSTYKA

105. Flora naturalna organizmu ludzkiego

Flora fizjologiczna to głównie bakterie (10^{14}), w mniejszym stopniu grzyby i pierwotniaki. Pochodzą one ze środowiska, od matki (drogi rodne, jama nosowo – gardłowa, skóra), od personelu szpitalnego. Na naturalną florę wpływają: wiek, zmiana miejsca pobytu, choroby, preparaty antybakteryjne (antybiotyki, kosmetyki, mydła). Flora fizjologiczna jest bardzo nierównomiernie rozmieszczona w obrębie organizmu:

- Do miejsc wyjątkowo bogato skolonizowanych należą: skóra, błony śluzowe górnych dróg oddechowych, górny i dolny odcinek przewodu pokarmowego (jama ustna, jelito grube), pochwa, ucho zewnętrzne.
- Skąpo skolonizowane są: krtań, tchawica, oskrzela, zatoki boczne nosa, przełyk, żołądek, początek jelita cienkiego, cewka moczowa, szyjka macicy, spojówka, ucho środkowe.
- Fizjologicznie skolonizowane nie są: oskrzeliki, pęcherzyki płucne, jama opłucnej, układ krwionośny, układ kostno – stawowy, układ nerwowy, mięśnie, narządy wewnętrzne.

- rozmieszczenie i skład:

- Skóra zawiera 10^4 - 10^5 CFU / cm^2 (CFU = jednostka tworząca kolonię). Szczególnie skolonizowane są miejsca wilgotne, takie jak pachy, pachwiny czy okolice odbytu. W skład flory skóry wchodzi z G(+): *S. epidermidis* (85-100%) i inne CNS, *S. aureus* (5-25%), *Propionibacterium acnes* (gruczoły łojowe; 45-100%), *Corynebacterium* spp. (50%), z G(-): *Acinetobacter* spp. (miejsca wilgotne), z grzybów: *Candida* spp. (miejsca wilgotne, osoby starsze), *Melanospora furfur* (mieszki włosowe).
- Nos zawiera *S. epidermidis* oraz *S. aureus* (nosicielstwo u 1/3 populacji).
- Gardło zawiera z G(+): paciorkowce α -hemolizujące, *Bifidobacterium* (beztlenowe), z G(-): *Neisseria* spp., z grzybów: *Candida* spp. (niewiele).
- We florze migdałków występują te same bakterie co w gardle, a ponadto beztlenowe ziarniaki: *Peptostreptococcus* spp., *Veillonella* spp. (wrzecionowce) oraz promieniowce (*Actinomyces*).
- W jamie ustnej znajduje się 10^9 - 10^{12} CFU / ml śliny, kolonizuje ją ok. 20 gatunków, z czego połowę stanowią ziarniaki. Najwięcej bakterii występuje na zębach i grzbiecie języka. W kieszonekach dziąsłowych występują beztlenowce G(+) i G(-) (*Streptococcus* spp. (γ), *Peptostreptococcus* spp., *Veillonella* spp., *Fusobacterium* spp., *Bacterioides* spp.) oraz bakterie spiralne (*Treponema*). U osób starszych mogą być obecne *E. coli* i *K. pneumoniae*.
- Ślina zawiera paciorkowce α -hemolizujące: *S. salivarius*, *S. mitans*, *S. mutans*.
- Górne drogi oddechowe skolonizowane są przez: *Moraxella catarrhalis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, które mogą być potencjalnie chorobotwórcze.
- Kwaśne środowisko żołądka nie pozwala na bytowanie większości bakterii. Mogą w nim jednak przeżyć *M. tuberculosis* oraz *H. pylori*.
- W początkowym odcinku jelita cienkiego znajduje się niewiele bakterii, ich liczba rośnie stopniowo wraz z posuwaniem się w dół jelita.
- Jelito grube zawiera 10^{10} - 10^{11} CFU / g treści jelita. Ponad 90% z nich to bakterie beztlenowe: *Bacterioides* spp. (~30%), *Bifidobacteriae* spp., *Clostridium* (np. *difficile*; niewiele). Do względnie beztlenowych należą: pałeczki *Enterobacteriaceae* (głównie *E. coli*) i ziarniaki *Enterococcus* spp. Stosunkowo najmniej stanowią: *S. aureus*, *Candida* i enterowirusy. Przewód pokarmowy jest łącznie skolonizowany przez ok. 400 gatunków, w czym stosunek beztlenowych do tlenowych wynosi 100:1. Podział wg Gibbsona wyróżnia bakterie szkodliwe (*Staphylococcus*, *Clostridium*, *P. aeruginosa*), oportunistyczne (*Bacterioides*, *Enterobacter*, *Enterobacteriaceae*) oraz korzystne (*Bifidobacteriae*, *Lactobacillus*).
- Cewka moczowa zawiera niewielką liczbę bakterii G(+), głównie w swej dystalnej części, pochodzących z odbytu, pochwy i skóry.
- Pochwa przed okresem dojrzałości płciowej charakteryzuje się florą skąpą i zmienną. Przed menopauzą, dopóki panuje w niej kwaśne pH, przeważają: *Lactobacillus* spp., *Bacterioides* spp., *Corynebacterium* spp., *Candida* spp. (pojedyncze komórki). Po menopauzie, kiedy pH podnosi się i staje alkaliczne, pojawiają się potencjalnie chorobotwórcze gatunki: *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *E. coli* K1, *Listeria monocytogenes*.

- Znaczenie flory fizjologicznej dla organizmu człowieka:

- pozytywne:
- ochrona przed kolonizacją drobnoustrojami patogennymi
- ➔ zajęcie receptorów na komórkach gospodarza,
- ➔ wydzielanie mucyny,

- ➔ wytwarzanie substancji przeciwbakteryjnych (małe kwasy tłuszczowe produkowane przez florę jelitową hamują wzrost *Salmonella* spp.)
 - pobudzenie układu immunologicznego przez stałe uwalnianie niewielkiej ilości antygenów, np. endotoksyn bakteryjnych (G(-))
 - synteza niektórych witamin (K, B₁₂)
 - uczestnictwo w trawieniu spożywanych pokarmów
 - rozkład toksyn, w tym kancerogenów,
 - ochrona przed zakażeniami i produkcja antybiotyków,
 - stymulacja do odnowy nabłonka
 - spadek flory może powodować: wzdęcia, zaburzenia trawienia, spadek perystaltyki, rozwój chorób
 - negatywne:
 - ochrona bakterii chorobotwórczych (gronkowce → penicyliny)
 - współdziałanie w miejscowych zmianach chorobowych (np. zmiany próchnicze: *S. mutans* powoduje demineralizację szkliwa, co pomaga osiedlać się w jego pęknięciach bakteriom beztlenowym),
 - zakażenia wywołane florą własną (w stanach obniżonej odporności, zaburzeniach składu flory, przemieszczeniu jej do jałowych tkanek i jam ciała):
 - ➔ uszkodzenie barier jelitowych (niedokrwienie trzewi – oparzenia, wstrząs krwotoczny, po antybiotykoterapii, żywienie pozajelitowe)
 - ➔ przerwanie ciągłości tkanek, np. pooperacyjne,
 - ➔ immunosupresja wrodzona i nabyta (kandydoza w przebiegu AIDS, angina Plauta – Vincenta: *Borrelia vincenti* + *Fusobacterium fusiforme*)
- powikłania antybiotykoterapii:
 - ➔ kandydoza pochwy,
 - ➔ rzekomobłoniaste zapalenie jelit (*C. difficile* – przyczyna 20-30% biegunek poantybiotykowych)
 - powikłania zabiegów inwazyjnych:
 - ➔ zakażenie układu moczowego po cewnikowaniu pęcherza,
 - ➔ posocznica odcewnikowa,
 - ➔ zakażenia oddechowe po intubacjach

106. Zakażenia oportunistyczne

Zakażenia oportunistyczne lub endogenne to zakażenia charakterystyczne dla osobników o obniżonej odporności. Przyczyny takiego stanu są różne, najczęściej wrodzone lub nabyte (AIDS) niedobory odporności oraz immunosupresja nowotworowa i jatrogena (przede wszystkim w transplantologii). Czynniki etiologicznymi zakażeń endogennych są składniki fizjologicznej flory organizmu. Zakażeniom tym zazwyczaj towarzyszą nowotwory (mięsaki, chłoniaki).

Do najczęstszych zakażeń oportunistycznych zaliczamy:

- bakteryjne
 - wywołane przez prątki gruźlicy (gruźlica płuc, częste są postacie nietypowe – *Mycobacterium avium* complex),
 - posocznice salmonellozowe
 - wirusowe
 - CMV → cytomegalia (zajęcie układu pokarmowego, siatkówki, zapalenie płuc),
 - HSV → zakażenia wirusami opryszczki,
 - VZV → półpasiec o ciężkim przebiegu
 - grzybicze
 - *Candida* spp. → kandydoza jamy ustnej, przełyku i dalszych odcinków przewodu pokarmowego, a także płuc
 - *Cryptococcus* → kryptokokoza (zapalenie płuc, ciężkie zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu)
 - zakażenie *Pneumocystis carinii* – najczęściej spotykane zakażenie oportunistyczne u chorych na AIDS – zapalenie płuc o ciężkim i nawracającym przebiegu, wymagające leczenia szpitalnego; w 50 % przypadków jest pierwszym objawem AIDS
 - pierwotniakowe
 - *Toxoplasma gondii* → toksoplazmoza (zajęcie ośrodkowego układu nerwowego lub jako zapalenie płuc),
 - *Cryptosporidium* → kryptosporydioza (wodnista biegunka)

Większość z powyższych zakażeń jest opisana w rozdziałach poświęconych odpowiednim organizmom. Wyjątki opisane zostały poniżej:

- Drożdżycza, kandydoza, bielnica (łac. candidosis) to grzybicza, oportunistyczna infekcja skóry, błon śluzowych, paznokci i wyjątkowo rzadko infekcja uogólniona. Choroba ta najczęściej jest wywołana drożdżakami chorobotwórczymi z rodzaju *Candida* (szczególnie *Candida albicans*). Drożdżycę rozpoznaje się głównie poprzez badania mikroskopowe i hodowlane. Postacie:
 - Wyprzenie drożdżakowe – Podobne jest do wyprzenia bakteryjnego. Najczęściej rozwija się w trzeciej i czwartej przestrzeni międzypalcowej rąk (czyli między III a IV oraz IV a V palcem), rzadziej w przestrzeniach międzypalcowych stóp oraz fałdy skórne; okolice podsutkowe (u otyłych kobiet), pachwinowe i międzypoślądkowe (u noworodków). Widoczne objawy to ogniska rumieniowo-wysiękowe i złuszczone, ograniczone do miejsc przylegania fałdów, wykazuje znaczną macerację naskórka i pękanie w głębi fałdów.
 - Drożdżycza paznokci i wałów paznokciowych – W okresie wczesnym uwidacznia się jako obrzęk, silnie zaczerwienione i bolesne zgrubienie wału paznokciowego, natomiast przy ucisku spod wału sączy się ropna wydzielina. W czasie choroby skóra w tych okolicach staje się cienka, napięta oraz zmieniona zapalnie. W zmianach długotrwałych płytki stają się żółtawo-brunatne, tracą połysk, ulegają przerostowi i rozwarstwieniu.
 - Drożdżycza błon śluzowych – Umiejscawia się najczęściej w pochwie, sromie, przewodzie pokarmowym, jamie ustnej (np. jako zajady lub zapalenie języka). W przypadku zajęcia narządów płciowych kobiet, charakterystyczne objawy choroby to: obrzęk, zaczerwienienie błon śluzowych i ropne upływy. Przy pożyciu płciowym mężczyzna zostaje zakażony. Objawy drożdżycy mężczyzny to: podrażnienie i stan zapalny żołądki i wewnętrznej powierzchni napletka ze świądem i pieczeniem. U dzieci występuje często pod postacią pleśniawek.
Objawy kandydozy pokarmowej: wzdęcia, biegunki, zaparcia, trudności ze spaniem, alergie, chęć na tłuszcze nasycone, łuszczyca, astma, depresje, agresywność, bóle w stawach.
- *Pneumocystis jirovecii*, znany również pod starą nazwą *Pneumocystis carinii* (wtedy sklasyfikowany jako pierwotniak), jest grzybem wywołującym u człowieka pneumocystozowe zapalenie płuc. Dotyka ona ludzi o słabszej odporności, takie jak dzieci i osoby starsze, ale są to sporadyczne przypadki. Większość przypadków zakażenia *Pneumocystis carinii* jest objawem zakażenia AIDS. Grzyb występuje w przewodach pokarmowych większości zwierząt domowych (kot, pies oraz bydła domowego i koni), jednak bardzo rzadko infekuje on zdrowy organizm. Drobnoustrojem zarażają się najczęściej chorzy na AIDS, nowotwory jelita grubego lub mający w jakiś sposób upośledzony układ odpornościowy. Zakażenie pneumocystozą wykrywa się barwieniem srebrem płwociny.

107. Zakażenia szpitalne

Zakażenie szpitalne to zakażenie, które wystąpiło w wyniku leczenia w szpitalu lub w związku z pobytem w szpitalu i jest wtórne do podstawowego stanu pacjenta. Infekcje uważa się za szpitalne, jeśli wystąpiły 48 godzin po przyjęciu. W niektórych przypadkach definicja zakażenia szpitalnego jest nieco inna:

- u noworodków za zakażenie szpitalne przyjmuje się zakażenie, które wystąpiło po upływie 48 godzin od porodu, a przed porodem u matki nie istniało zakażenie,
- w przypadku zakażenia miejsca operowanego (zakażenie rany operacyjnej) u pacjenta nie zakażonego przed zabiegiem za zakażenie uznaje się zakażenie, które wystąpiło w ciągu miesiąca od zabiegu, a jeśli pacjent ma wszczepione ciała obce (np. implanty ortopedyczne), w ciągu roku od zabiegu.

Czynniki etiologiczne i czynniki ryzyka

a) ZUM

Zakażenia układu moczowego (ZUM) stanowią około 40-50% zakażeń szpitalnych. Wśród czynników etiologicznych dominuje *E. coli* (~50%) oraz wielooporne szczepy *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, gronkowce, enterokoki i grzyby. U pacjentów z cewnikiem wprowadzonym na stałe do pęcherza moczowego obserwuje się początkowo dominujący udział *E. coli*, ale im dłuższy okres utrzymywania cewnika tym częściej występują inne drobnoustroje G(-) *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* oraz G(+) gronkowce, enterokoki. Czasem niektóre pałeczki G(-) powodują zakażenia mieszane, np. *Pseudomonas* może występować z pałeczką *Proteus* lub *Klebsiella* (dotyczy to najczęściej pacjentów po zabiegach chirurgicznych).

W szpitalnych ZUM dochodzi do kolonizacji przewodu pokarmowego i okolicy krocza wielooporną florą szpitalną. Najważniejszymi czynnikami ryzyka są: cewnikowanie pęcherza moczowego, zabiegi urologiczne, cystografia mikcyjna, zastój moczu i zaniedbania higieniczne. Ryzyko zakażenia jest proporcjonalne do czasu utrzymywania cewnika. Szacuje się, że częstość występowania zakażenia wynosi około 3-10% na dzień

utrzymywania cewnika (w systemie otwartym) w pęcherzu moczowym (samo założenie cewnika to 10% ryzyka rozwinięcia się ZUM).

Zapobieganie zakażeniom związanym z cewnikowaniem polega przede wszystkim na:

- stosowaniu systemów zamkniętych ze środkiem odkażającym,
- stosowaniu cewników silikonowych ze środkiem odkażającym,
- utrzymywaniu stałego przepływu moczu przez cewnik (prawidłowe nawodnienie),
- unikaniu cewnikowania w przypadkach nie wymagających takiego postępowania.

b) zakażenia układu pokarmowego

Laseczka *C. difficile* występuje w przewodzie pokarmowym w niewielkich ilościach u 5 – 10% zdrowych ludzi i u ok. 25-30% pacjentów hospitalizowanych. Jej obfite namnażanie jest tłumione przez bakterie flory fizjologicznej (głównie inne beztlenowce), ale w stanach zniszczenia flory naturalnej antybiotykoterapią (szczególnie stosowaniem cefalosporyn i klindamycyny) laseczki te namnażają się i kolonizują jelito. Laseczki syntetyzują egzotoksyny odpowiedzialne za kliniczne objawy zakażenia. Wodnista biegunka pojawia się po 3 – 4 dniach antybiotykoterapii (rzadko występują samoistne przypadki bez stosowania antybiotyków). Uszkodzenie błony śluzowej i wysięk zapalny prowadzą do powstania grubych błon rzekomych, wydalanych przez chorego z kałem. Po odstawieniu antybiotyków może nastąpić powolna poprawa, jednak w wielu nie leczonych przypadkach może dojść do postępującego zapalenia i perforacji jelita.

U pacjentów hospitalizowanych z wyjąłowanym przewodem pokarmowym laseczka *C. perfringens* może kolonizować jelito prowadząc do zagrażających życiu owrzodzeń jelita.

c) zakażenia krwi

Czynnikami ryzyka szpitalnych zakażeń krwi są:

- zakładanie stałych cewników naczyniowych – zakażenia odcewnikowe stanowią 40-60% zakażeń krwi,
- podawanie płynów infuzyjnych oraz transfuzje krwi (ryzyko zakażeń wirusowych: HBV, HCV, HIV),
- immunosupresja (bakterie, wirusy: HBV, HCV, CMV, HIV, grzyby: *Candida* ssp., *Cryptococcus* ssp., *Aspergillus* ssp., *Mucor* ssp., *Rhizopus* ssp.),
- zabiegi na układzie moczowym, cewnikowanie serca i naczyń, zabiegi kardiochirurgiczne, sztuczne zastawki (ryzyko zapalenia wsierdza – endocarditis),
- ogólnie techniki inwazyjne: duże zabiegi, hemodializa, linie naczyniowe; ponadto nieprawidłowa antybiotykoterapia oraz długa hospitalizacja.

d) zakażenia OUN

Czynniki ryzyka:

- zabiegi i punkcje układu nerwowego (*Staphylococcus* ssp., *Enterococcus* ssp., pałki G(-), *Candida* ssp.),
- przeszczepy i immunosupresja (pałki G(-)),
- wodogłowie, zabiegi – ryzyko zakażenia połączeń komorowo-przedsińkowych (*Staphylococcus* ssp., *Corynebacterium* ssp., *Propionibacterium* ssp., pałki G(-), *Candida* ssp.)

e) zakażenia skóry i tkanek miękkich

Czynnikami ryzyka zakażeń szpitalnych są wszelkiego rodzaju zabiegi inwazyjne, związane z naruszeniem powłok ciała i pozostawiające rany – potencjalne wrota zakażenia.

Zakażenia ran chirurgicznych to najczęstsza infekcja po zabiegach operacyjnych i trzecie co do częstości zakażenie wśród hospitalizowanych pacjentów. Ze względu na obszar objęty infekcją wyróżniono:

- zakażenia niepowikłane – obejmujące skórę i tkanki podskórne w miejscu nacięcia,
- zakażenia głębokie – dotyczące tkanek w obrębie lub poniżej powięzi,
- zakażenia narządów lub jam ciała – dotyczące każdego narządu lub obszaru naruszonego w trakcie zabiegu, z wyjątkiem skóry, tkanki podskórnej, powięzi i mięśni w okolicy nacięcia.

Najłagodniejsze i najczęstsze zakażenia niepowikłane stanowią 60-80% ogółu zakażeń ran chirurgicznych i rozwijają się najczęściej w 4-8 dniu po zabiegu. Zakażenia głębokie i narządowe występują rzadziej, mogą jednak prowadzić do poważnych powikłań w postaci ropni narządowych, bakteremii i posocznicy.

Czynnikami etiologicznymi zakażeń ran chirurgicznych to: *S. aureus* (najczęściej), *S. epidermidis* (wszczepy), *S. pyogenes* i inne paciorkowce β -hemolizujące (B, C), *Enterococcus*, pałki G(-), gł. *Enterobacteriaceae* (~ 40%), *P. aeruginosa* (zakażenia powierzchniowe) oraz beztlenowce: *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* (zakażenia głębokie, głównie po zabiegach na przewodzie pokarmowym i ginekologicznych).

Pobyt w szpitalu jest często związany z długotrwałym unieruchomieniem w pozycji leżącej (często na wznak). Jest to, obok współistniejącego uszkodzenia rdzenia, najważniejszy czynnik ryzyka powstania odleżyn. Odleżyna jest przykładem zgorzeli wilgotnej, spowodowanej długotrwałym uciskiem (brakiem prawidłowego ukrwienia tkanek) i działaniem zakażonych wydaliny: moczu, kału, potu. Odleżyny tworzą się najczęściej w okolicy krzyżowej, powstają

także w okolicy guzów siedzeniowych, krętarzy, na piętach i łokciach. Odleżyny pojawiają się średnio u 6% (3-17%) chorych hospitalizowanych. Zakażenie owrzodzenia odleżynowego może przebiegać z zajęciem tkanek powierzchniowych i głębokich. Czynniki etiologiczne zakażeń ran odleżynowych to: Enterobacteriaceae (najczęściej), *S. aureus*, *Enterococcus* spp., beztlencowce: *Peptostreptococcus* (odleżyny w 3 i 4 fazie). Niekiedy odleżynom towarzyszą ciężkie infekcje takie jak: zapalenie zakrzepowe żył, martwica powięzi, zapalenie kości i szpiku oraz bakteremia. Odleżyny są przyczyną ponad 50% bakteremii występujących u tej grupy pacjentów.

f) zakażenia dróg oddechowych

Najczęstszym ciężkim powikłaniem hospitalizacji związanym z układem oddechowym są szpitalne zapalenia płuc. Do czynników etiologicznych tego stanu należą:

- u pacjentów oddziałów zachowawczych: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa*,
- u pacjentów oddziałów intensywnej terapii: *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Legionella* spp.,
- u pacjentów oddziałów pediatrycznych: wirusy RS, grypy i paragrypy.

Dodatkowym czynnikiem zwiększającym szansę zakażenia jest sztuczna wentylacja, związana z wprowadzaniem ciał obcych do dróg oddechowych (rurki intubacyjne i tracheotomijne, cewniki do odsysania wydzieliny), a także techniki wizualizacji dróg oddechowych (bronchoskopia).

g) noworodki

Wraz z postępem medycyny coraz więcej dzieci urodzonych w ciężkim stanie ma szansę na przeżycie. Wiele z nich jest hospitalizowanych w oddziałach intensywnej pomocy medycznej. Zakażenia szpitalne są dużym zagrożeniem czyhającym na te noworodki i często są przyczyną ich śmierci. Analiza zebranych danych ujawniła następujące czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia zakażeń szpitalnych: przedwczesne pęknięcie błon płodowych, choroba matki, zastosowanie całkowitego żywienia pozajelitowego, założenie cewnika do żyły głównej oraz podłączenie do respiratora.

Zarys problemu

Współczesna medycyna obok wspaniałych osiągnięć, niesie też ze sobą negatywne skutki w postaci np. zwiększonej podatności na zakażenia. Zakażenia szpitalne są obecnie jedną z głównych przyczyn chorób zakaźnych i dotyczą wszystkich szpitali na świecie, nawet w krajach bardzo rozwiniętych cywilizacyjnie. Zakażenia te stanowią zagrożenie zarówno dla pacjentów jak i personelu szpitalnego. Ich występowanie niejednokrotnie powoduje pogorszenie przebiegu choroby podstawowej, wydłuża okres hospitalizacji i zwiększa koszty leczenia. Zakażenia szpitalne będą istniały zawsze, ale istotne jest dla danego szpitala i całego procesu leczniczego w jakim odsetku one występują. W krajach, gdzie medycyna postawiona jest na należycie wysokim poziomie, prowadzona jest ciągła i szczegółowa rejestracja zapadalności na zakażenia szpitalne oraz ich merytoryczna kontrola i zapobieganie. Zakażenia szpitalne nie są uważane za uchybienie szpitala, ale za zjawisko nieodłączne od ich istnienia. Niemniej jednak zapobieganie zakażeniom nabywanym w zakładach opieki zdrowotnej pozostaje jednym z głównych zadań pracowników tych zakładów. Do lat 60-tych zalecenia dotyczące kontroli zakażeń szpitalnych były subiektywne, oparte w dużej mierze na doświadczeniach indywidualnych, często nawet na doniesieniach anegdotycznych. W ostatnim dwudziestolecu zwalczanie zakażeń szpitalnych uznano za temat w medycynie zasadniczy, omawiany szczegółowo w licznych opracowaniach naukowych. Powstało Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych, które opracowało i koordynowało ogólnopolskiego programu nadzoru nad zakażeniami szpitalnymi, w ramach którego od 1997 r. w wielu polskich szpitalach wdrożono jednolity systemu rejestracji zakażeń szpitalnych, który był z pewnymi modyfikacjami prowadzony do końca 2001 r. Program objął 116 szpitali w całej Polsce, które dobrowolnie do niego przystąpiły wnosząc dane o zakażeniach szpitalnych dotyczące w sumie 15% łóżek szpitalnych w Polsce oraz 20% ogółu hospitalizowanych chorych.

Epidemiologia zakażeń szpitalnych

Na podstawie pracy doktorskiej z CM UJ: Badania w analizowanym roku 1999 przeprowadzono na grupie 120 szpitali, obejmujących 43948 (20,4%) łóżek szpitalnych, gdzie leczeniem i analizą epidemiologiczną objęto 513807 (20,4%) pacjentów. Ogólny współczynnik zachorowalności wynosił 2 %. Spośród ogólnej liczby 10107 pacjentów z zakażeniami szpitalnymi (występującymi pojedynczo, bądź z kilkoma współistniejącymi zakażeniami):

- było 988 (9,8 %) chorych u których stwierdzono jednoczesne występowanie dwóch i więcej form zakażeń,
- dla 189 (1,9 %) nie określono formy klinicznej zakażenia,
- u 699 stwierdzono zgon bezpośrednio bądź pośrednio związany z zakażeniem szpitalnym – ogólny współczynnik śmiertelności kształtował się na poziomie 6,9%. Najwyższy współczynnik śmiertelności

odnotowano dla OIOM (22,4%) oraz w grupie osób starszych (≥ 75 lat) (12,7%), natomiast najniższy stwierdzono na oddziałach ginekologiczno-położniczych (poniżej 0,5%) oraz u dzieci w wieku do ukończenia 14 lat (poniżej 1%).

Płyną z tego m. in. następujące wnioski:

- Epidemiologia zakażeń szpitalnych w polskich szpitalach nie różni się w istotny sposób od wyników uzyskiwanych w krajach prowadzących nadzór nad zakażeniami od wielu lat.
- Analiza śmiertelności pacjentów, u których stwierdzono zakażenie szpitalne odpowiada zjawiskom ogólnoświatowym, z wyjątkiem zakażeń krwi, które są rzadko rozpoznawane u leczonych pacjentów, na co wskazuje niski współczynnik zachorowalności. Prawdopodobną przyczyną zaobserwowanego zjawiska jest zbyt mała ilość badań mikrobiologicznych wykonywanych na potrzeby nadzoru epidemiologicznego.
- Największe ryzyko wystąpienia zakażenia szpitalnego, zarówno w polskim szpitalu, jak i w innych programach nadzoru, wiąże się z hospitalizacją pacjentów w oddziałach intensywnej opieki medycznej. Natomiast wśród czynników ryzyka w znacznym stopniu zwiększających ryzyko wystąpienia zakażenia oraz istotnie wpływających na śmiertelność wskazano: wiek powyżej 74 lat, procedury diagnostyczne i terapeutyczne na górnych drogach oddechowych, wkłucia do naczyń krwionośnych, cewnikowanie pęcherza moczowego oraz u noworodków: waga urodzeniowa poniżej 2 500 gramów.

Według danych PTZS najczęstszą formą zakażeń szpitalnych są zakażenia układu moczowego i szpitalne zapalenia płuc. Największym ryzykiem wystąpienia zakażenia obciążeni są pacjenci OIOM różnych typów, w tym neonatologicznej (zachorowalność sięgająca 25%, śmiertelność 26%) oraz oddziałów chirurgicznych. Przedłużenie pobytu pacjenta związane z zakażeniem wynosi od 11 do 25 dni w przypadku pierwotnego zakażenia krwi, bądź wystąpienia zakażeń współistniejących (kilkanaście procent przypadków zakażeń). Leczenie przypadków zakażeń, ze względu na konieczność zastosowania farmakoterapii jest niezwykle kosztowne (koszt prawidłowo przeprowadzonej antybiotykoterapii w przypadku zakażenia krwi może wynieść od 1000 do 5000 zł).

Zapobieganie i kontrola

Docelowo profilaktyka zakażeń szpitalnych w Polsce ma polegać na:

- ścisłej kontroli higieny szpitalnej, szczególnie pod względem żywienia, prania oraz gospodarki odpadami,
- wprowadzeniu systemu czynnej rejestracji (obecnie panuje system bierny), co umożliwi m.in. szybkie wykrycie i identyfikację pacjentów, w stosunku do których należy zastosować szczególne środki ostrożności, z izolacją włącznie; metoda rejestracji czynnej przenosi obowiązki wykrywania i kwalifikacji zakażeń szpitalnych z osoby lekarza prowadzącego na pielęgniarkę epidemiologiczną, która:
 - uczestniczy w obchodach,
 - przegląda historię choroby pacjenta, karty gorączkowe i antybiotykowe, raporty pielęgniarskie,
 - w przypadku wykrycia zakażenia zgłasza zakażenie do zespołu kontroli zakażeń,
 - dba o pełną dokumentację mikrobiologiczną każdego wypadku zakażenia
- organizacji szkolenia pielęgniarek, które obecnie pełnią funkcje pielęgniarek epidemiologicznych i znają problem nadzoru od strony praktycznej: szkolenie to tygodniowy intensywny kurs uczący identyfikacji, kwalifikacji i rejestracji zakażeń, składa się z części teoretycznej z zakresu epidemiologii szpitalnej oraz praktycznej,
- funkcjonowaniu w szpitalu Zespołu Kontroli Zakażeń, w którego składzie znajdzie się lekarz mikrobiolog (bądź inny przeszkolony) i pielęgniarki epidemiologiczne w liczbie jedna na 200-250 łóżek; zespół jest odpowiedzialny za bieżące działania związane z kontrolą zakażeń, choć podstawowym zadaniem jest monitorowanie zakażeń endemicznych występujących na poszczególnych typach oddziałów i szybkie reagowanie w przypadku wystąpienia epidemii,
- monitorowaniu procedur, które są istotnym czynnikiem ryzyka zakażeń szpitalnych pacjentów i personelu,
- nadzorze nad stosowaniem antybiotyków w szpitalu oraz rozpoznawanie oporności drobnoustrojów na leki – moduł nadzoru mikrobiologicznego umożliwia bieżącą orientację w konsumpcji antybiotyków związanej z leczeniem zakażeń, w stosowaniu profilaktyki okołoperacyjnej, czy nawet nadzór nad zgodnością zastosowanego chemioterapeutyku z wynikiem badania mikrobiologicznego,
- wprowadzeniu kart pomocniczych, opisujących podstawowe procedury pod względem czynników ryzyka,
- prowadzeniu baz danych epidemiologii szpitalnej, powstałych z zebranych informacji o przypadkach zakażeń oraz danych pomocniczych opisujących sytuację; program komputerowy dla ZKZ umożliwia wykonanie zestawień i analiz potrzebnych zespołowi epidemiologów, lekarzom innych specjalności, ordynatorom i dyrekcji szpitala.

108. Odporność przeciwwakacyjna przeciwbakteryjna i przeciwwirusowa

Przeciwwakacyjne mechanizmy obronne organizmu można podzielić na swoiste oraz nieswoiste.

- I. Mechanizmy nieswoiste odgrywają ważną rolę w początkowej obronie gospodarza przed zakażeniem. W ich skład wchodzi mechanizmy miejscowe oraz układowe.
 1. Do mechanizmów miejscowych należą:
 - fizyczna integralność skóry i błony śluzowej,
 - lizozym we łzach, ślinie, pocie i innych wydzielinach,
 - kwaśność soku żołądkowego,
 - przepływ wydzieliny błon śluzowych układu oddechowego,
 - pasaż jelitowy,
 - przepływ moczu.
 2. Na mechanizmy układowe składają się: gorączka, interferony, fagocytoza oraz komórki NK.
 - a) Drobnoustroje i ich produkty aktywują makrofagi, które wydzielają przez to cytokiny (IL-1, 6, TNF- α), te z kolei pobudzają ośrodek termoregulacji w podwzgórzu, dając gorączkę. Podniesienie temperatury hamuje replikację czynnika zakaźnego.
 - b) Interferony (INF) są wydzielane przez wiele komórek, zwykle w odpowiedzi na zakażenie wirusowe. Dzielą się na 2 typy: typ I (INF- α i β) jest wydzielany przez większość komórek w odpowiedzi na samo zakażenie i hamuje replikację w zdrowych komórkach otaczających zakażenie, podczas gdy typ II (INF- γ) jest uwalniany przez aktywowane komórki T, sam aktywują makrofagi i komórki NK.
 - c) W fagocytozę są zaangażowane głównie 2 typy komórek, tj. neutrofile (mikrofagi) oraz makrofagi. Proces ten ulega nasileniu pod wpływem opsonin, choć neutrofile są zdolne do pochłaniania także cząstek nieopsonizowanych. Neutrofile posiadają na błonie receptory mannozowe, dzięki czemu rozpoznają i fagocytują organizmy o ścianie komórkowej bogatej w mannozę (np. *Candida*).
 - d) Naturalne komórki bójcze (NK) eliminują komórki zakażone przez wirusy lub bakterie wewnątrzkomórkowe
- II. Odporność swoistą można podzielić na humoralną oraz komórkową.
 1. Jeśli czynnik zakaźny nie zostanie szybko wyeliminowany przez mechanizmy nieswoiste, następuje jego namnożenie i jest on w końcu pochłaniany przez makrofagi tkankowe w regionalnych tkankach limfatycznych, uruchamiając w ten sposób swoistą odpowiedź immunologiczną. Jednym z następstw tego procesu jest synteza swoistych przeciwciał – jako pierwsze wydzielane są IgM, a następnie IgG i / lub IgA. Obronna rola przeciwciał ograniczona jest przez czas potrzebny na ich syntezę, począwszy od kontaktu z czynnikiem zakaźnym (około 7 dni). Jeżeli odpowiednie przeciwciała są już obecne w krążeniu (szczepienie, reakcja krzyżowa), to odpowiedź jest natychmiastowa i zakażenie pozostaje w stadium subklinicznym.

Obecność przeciwciał chroni organizm przed zakażeniem za pomocą wielu różnorodnych mechanizmów:

 - a) blokowanie adhezji do komórek błony śluzowej – IgA, podstawowe przeciwciała wydzieliny błon śluzowych, zapobiega ich kolonizacji przez blokowanie interakcji pomiędzy cząstkami adhezyjnymi lub powierzchniowymi glikoproteinami drobnoustrojów a ich receptorami na komórkach,
 - b) neutralizacja toksyn – swoiste przeciwciała zapobiegają wiązaniu się toksyn z ich komórkowymi receptorami, tworząc z nimi kompleksy immunologiczne, degradowane przez fagocyty,
 - c) neutralizacja wirusa – wirusy mogą być powstrzymywane przed zakażeniem komórek docelowych przez już obecne przeciwciała, które reagują z glikoproteinami powierzchniowymi, np. wypustkami kapsydu lub glikoproteinami osłonki,
 - d) eliminacja zakażającego drobnoustroju – odbywa się dzięki trzem podstawowym mechanizmom:
 - bezpośredniemu uszkodzeniu ściany komórkowej z udziałem dopełniacza (kompleks MAC) – istotny przeciwko bakteriom *Neisseria*, i częściowo wirusom, nie działa na pasożyty,
 - ułatwieniu fagocytozy (opsonizacji) – IgG są najbardziej skutecznymi opsoninami, ułatwiającymi fagocytozę w obecności dopełniacza lub jego braku, zaś IgM ułatwiają tylko przez receptor C3b po aktywacji C – skuteczne przeciwko bakteriom, wirusom i grzybom, brak działania na pasożyty,
 - cytotoksyczność zależna od przeciwciał (ADCC) – IgG1, 3 i IgE wiążą czynniki zakaźne lub zainfekowane komórki, ułatwiając ich niszczenie przez komórki posiadające receptor Fc (komórki K ↔ wirusy, eozynofile ↔ pasożyty, z udziałem MBP).
 2. Odporność komórkowa (CMI) – ma na celu eliminację patogenów wewnątrzkomórkowych, które są chronione przed swoistymi przeciwciałami. Może polegać na zabijaniu zakażonych komórek, np. w przypadku zakażeń wirusowych lub na aktywacji mechanizmów bakteriobójczych w komórkach

zakażonych, co prawdopodobnie występuje w przypadku zakażeń bakteriami lub jednokomórkowymi pasożytami.

- a) cytotoksyczność – Cytotoksyczne limfocyty T są głównymi komórkami efektorowymi zaangażowanymi w eliminację komórek zakażonych wirusem. Te ostatnie wykazują ekspresję peptydów wirusowych w połączeniu z MHC, co rozpoznają limfocyty T_c, po czym różnicują się i niszczą zakażone komórki.
- b) aktywacja makrofagów – W zakażeniach wewnątrzkomórkowych często komórkami najbardziej dotkniętymi są makrofagi. Kiedy limfocyty T_h rozpoznają obce peptydy połączone z MHC-II, ulegają aktywacji i wydzielają IFN- γ , aktywujący makrofagi, które zwiększają stężenia proteaz, NO i wolnych rodników. Uogólniona stymulacja reakcji związanych z wewnątrzkomórkowym systemem zabijania jest uważana za mechanizm prowadzący do eliminacji wewnątrzkomórkowych bakterii i pasożytów.

Odporność przeciwwirusowa

Większość zakażeń wirusowych jest nabywanych albo przez wstępne zakażenie śluzówek, albo drogą bezpośredniego wtargnięcia do krwiobiegu. Skóra i wydzieliny błon śluzowych są naturalnymi barierami dla zakażenia wirusowego. Kiedy mechanizmy te zawiodą lub są omijane, wirusy namnażają się we wrotach zakażenia i rozsiewają się w całym organizmie. Ostateczny wynik zakażenia zależy od skuteczności układu immunologicznego, który ogranicza rozsiew lub zapewnia eliminację wirusa po wtargnięciu do tkanki docelowej.

- a) Zakażenie ostre. Wyzdrowienie zależy przede wszystkim od nieodpornościowych mechanizmów obrony, takich jak gorączka i wydzielanie interferonów. Znaczenie odporności humoralnej w ostrym zakażeniu wirusowym jest ograniczone z powodu krótkiego czasu wylegania – wirus proliferuje we wrotach zakażenia, rozprzestrzenia się drogą krwionośną i zakaża tkankę docelową, zanim w dostatecznych ilościach zostaną zsyntetyzowane przeciwciała neutralizujące.
- b) Zakażenia przewlekłe. Powrót do zdrowia prawdopodobnie zależy od aktywacji T_c, które są zdolne do rozpoznania i zniszczenia komórek zakażonych wirusem. Przeciwciała nie są skuteczne w zapobieganiu szerzenia się zakażenia od komórki do komórki przez syncytium, a także w niszczeniu zakażonych komórek.

Odporność humoralna

Białko(a) kapsydu (wirusy nagie) i glikoproteiny osłonkowe (wirusy osłonkowe) są immunogenne, co oznacza, iż organizm syntetyzuje przeciwko nim swoiste przeciwciała. W odpowiedź przeciwwirusową zaangażowane są następujące typy przeciwciał:

- neutralizujące – zwykle reagują z antygenami powierzchniowymi, zapobiegają replikacji wirusa i odgrywają ważną rolę ochronną,
- na błonach śluzowych – czynniki zapobiegające zakażeniu u wrót przez blokowanie przyczepiania się wirusa do receptorów komórek śluzówki,
- wiążące dopełniacz – ułatwiają rozpad komórek zakażonych wirusem lub samych osłonek wirusowych z udziałem dopełniacza

Trwałość odporności na większość zakażeń wirusowych zależy od szybkiej syntezy nowych lub aktywacji już istniejących przeciwciał neutralizujących. Pamięć immunologiczna zostaje zapoczątkowana przez naturalną ekspozycję na wirusa albo przez immunizację. Szczepienia są bardziej skuteczne w przypadku chorób wywoływanych przez antygenowo stabilne wirusy z niewielką ilością serotypów i bez istniejących rezerwuarów zwierzęcych, np.: odra, świnka, ospa wietrzna, ospa, różyczka, WZW-B, polio.

Odporność komórkowa (CMI)

Głównym mechanizmem obrony wobec określonego zakażenia wirusowego jest eliminacja zakażonych komórek.

Komórki immunologicznie kompetentne to:

- T_c – najważniejsze w procesie niszczenia zakażonych komórek, rozpoznają i zabijają komórki z własnymi MHC zmodyfikowanymi przez peptyd wirusowy,
- T_h – pełnią rolę w ułatwianiu aktywacji, proliferacji i różnicowania T_c,
- cytotoksyczność komórek NK oraz ADCC.

Interakcja wirusa z komórkami immunologicznie kompetentnymi

Ochrona, jaką zapewnia odporność komórkowa, jest skomplikowana, ponieważ same komórki, które w niej pośredniczą, mogą też zostać zakażone. Aktywność limfocytów zaangażowanych w niszczenie komórek zakażonych wirusem może być ponadto znacznie bardziej szkodliwa niż samo zakażenie.

- a) Układ siateczkowo – śródbłonkowy (RES). Podczas zakażenia wirusowego często dochodzi do zakażenia makrofagów i komórek pokrewnych. W większości przypadków po rozwoju wirusa we wrotach zakażenia dochodzi do replikacji wirusa w RES, następnie zaczyna się wiremia i zakażenie tanki docelowej. Najczęściej zakażenie RES ma charakter przejściowy, ale niektóre wirusy powodują przetrwałe zakażenia fagocytów, które stają się stałym źródłem wirusów. Makrofagi i komórki pokrewne mogą być zakażone albo w wyniku interakcji wirusa z jego receptorem na błonie makrofaga (HIV) albo przez pochłanianie kompleksów przeciwciał – wirus i ich dysocjację w kwaśnym środowisku endosomu.
- b) Limfocyty – Zakażenie limfocytów T ma duże znaczenie, gdyż może prowadzić do stanu ich czynnościowej niewydolności. W niektórych przypadkach jest ona następstwem spadku liczby T_h (HIV, LCMV), w innych zaś wirusy powodują zmiany funkcjonalne bez niedoborów ilościowych (HTLV-1, wirus odry). Zakażone komórki mogą też uwalniać rozpuszczalne białka wirusowe lub inne czynniki, tłumiąc odpowiedź.

Patologiczne następstwa przeciwwirusowej odpowiedzi immunologicznej

- a) Odkładanie się kompleksów wirus – przeciwciało zachodzi jeśli wirus lub antygeny wirusowe uzyskują dostęp do krążenia. Powstałe kompleksy immunologiczne odkładają się w tkankach, gdzie mogą indukować zmiany zapalne. Np. wrodzone zakażenie CMV → odkładanie w nerkach → uszkodzenie; zakażenie lub przewlekłe nosicielstwo HBV → odkładanie w stawach, nerkach, naczyniach skórnych → zapalenie stawów, KZN, zapalenie naczyń.
- b) Kompleksy wirus – przeciwciało mogą ułatwić zakażenie przez wirusa komórek, które inaczej nie zostałyby dotknięte. Np. wirus ↔ IgG → zakażenie fagocytów, EBV ↔ dimer IgA → zakażenie śluzówki → rak nosogardzieli.
- c) Uszkodzenie tkanek jako następstwo odpowiedzi przeciwwirusowej. Np. zakażenie LCMV jest letalne tylko przy wykształconym układzie odpornościowym; przewlekłe zapalenie wątroby jako efekt cytotoxyczności względem hepatocytów zakażonych HBV, który niekoniecznie wyrządza szkody komórkom.

109. Szczepionki i szczepienia ochronne w Polsce

Immunoprofilaktyka jest aktywnym procesem wywoływania odpowiedzi immunologicznych, służącym do uzyskania ochrony przez chorobą zakaźną. Wraz z poprawą stanu sanitarnego immunoprofilaktyka przyczyniła się do znacznego spadku częstości występowania chorób zakaźnych.

Typy szczepionek

- a) szczepionki z zabitych (inaktywowanych) drobnoustrojów
 - bakteryjne, np. przeciw krztuścowi, durowi, cholercie (stara),
 - wirusowe
 - Szczepionka przeciwko grypie jest jedną z najpowszechniej stosowanych szczepionek przeciwwirusowych z inaktywowanych wirusów. Zawiera 1 lub 2 szczepy typu A oraz 1 szczep typu B wirusa grypy. Z powodu zmienności w składzie antygenowym wirusa typu A skład szczepionki jest corocznie zmieniany w celu włączenia szczepów aktualnie występujących w danej populacji.
 - Szczepionka przeciw poliomyelitis z zabitych wirusów (szczepionka Salka) jest przygotowywana z 3 znanych typów wirusów polio po unieczynnieniu formaliną. Stosowana była do masowego szczepienia w wielu krajach i jest zalecana u dzieci z upośledzonym układem immunologicznym.
 - Szczepionki z zabitym wirusem HIV są obecnie w trakcie badań. Nie ma na razie dowodów na indukowanie przez nie obronnych reakcji immunologicznych.
- b) szczepionki z atenuowanych (zmutowanych) drobnoustrojów
 - bakteryjne – dzięki osiągnięciom genetyki molekularnej prowadzi się prace nad zastosowaniem atenuowanych szczepów bakteryjnych w immunoprofilaktyce – w zmutowanych szczepach nie ma na ogół genów kodujących najważniejsze czynniki zjadliwości, ale pozostają one wysoce immunogenne, np. szczepionka przeciw durowi (nowa) czy krztuścowi (doświadczalna)
 - wirusowe – szczepionki z atenuowanych wirusów były pierwszymi szczepionkami, które opracowano wcześniej, niż scharakteryzowano same wirusy, np. szczepionka przeciwko żółtej febrze, śwince, różyczce, odrze, ospie wietrznej, doustna szczepionka Sabina przeciwko poliomyelitis
- c) szczepionki ze składników drobnoustrojów
 - bakteryjne
 - polisacharydy – stosowane jako szczepionki przeciwko *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae* b; problemy związane są ze zmiennością antygenową lub ze słabą immunogennością niektórych polisacharydów
 - toksoidy – są inaktywowanymi toksynami, które utraciły aktywność, a zachowały immunogenność; podanie toksoidu indukuje produkcję przeciwciał zdolnych do neutralizacji toksyn przez blokowanie ich przyłączania do receptorów komórkowych, np. toksoidy tężca, błonicy, *C. perfringens* typu C

- koniugaty toksoidu z polisacharydem – w niektórych przypadkach (*H. influenzae*) uzyskuje się znaczne nasilenie immunogenności, jeśli polisacharyd zostanie skojarzony z toksoidem o znanym stopniu bezpieczeństwa i immunogenności (np. błonicznym) – takie skojarzone szczepionki są zalecane do rutynowej immunizacji dzieci,
- szczepionki o mieszanych składnikach (bezkomórkowe) – składają się z inaktywowanych toksyn i jednego lub wielu czynników adhezyjnych
- wirusowe – np. szczepionka przeciwko WZW typu B – przygotowywana z cząstek białka zewnętrznej warstwy wirusa (antygen powierzchniowy HBsAg)
- d) szczepionki rekombinowane – zdolność do identyfikacji czynników zjadliwości oraz manipulowania genomami bakteryjnymi i wirusowymi przyczyniła się do powstania całkowicie nowej klasy szczepionek, stwarzając możliwości szczepień wieloważnych z zastosowaniem pojedynczego preparatu; informacja kodująca odpowiednie antygeny nie spokrewnionych ze sobą wirusów lub bakterii jest dodana do genomu organizmu nośnika (wektora), którym może być np. rekombinowany wirus krowianki, atenuowane bakterie czy wirusy owadów
- e) syntetyczne szczepionki oligopeptydowe – Rozwój syntetycznych szczepionek skupia się na syntezie sekwencji peptydowych odpowiadających znanym epitopom rozpoznawalnym przez przeciwciała neutralizujące. Zastosowanie syntetycznych peptydów do szczepienia ma przewagę nad innymi typami szczepionek ze względu na łatwość wytwarzania i bezpieczeństwo. W trakcie badań jest zastosowanie syntezy peptydów w celu stworzenia szczepionek przeciw malarii i HIV.
- f) szczepionki DNA – Domięśniowe wstrzyknięcie nie replikującego się plazmidowego DNA, kodującego hemaglutyninę lub nukleoproteinę wirusa grypy, wywołuje reakcje odpornościowe typu humoralnego i komórkowego. Nie wyjaśniono, jak dochodzi do ekspresji DNA i jak jego informacja jest przekazywana na białka wirusowe, ale pozytywne wyniki doświadczenia wzbudziły niezwykle zainteresowanie.

Program szczepień ochronnych w Polsce:

termin	szczepionki
24 h po urodzeniu	HepB, BCG (odstęp < 24 h)
2 miesiące (6 tyg. po poprzedniej)	DTP, OPV, HepB
przełom 3 / 4 miesiąca (6 tyg. po poprzedniej)	DTP, OPV, HepB
5 miesiąc (6 tyg. po poprzedniej)	DTP, OPV
12 miesiąc	HepB, BCG
13 – 14 miesiąc	przeciw odrze (pojedyncza lub MMR)
16 – 18 miesiąc	DTP, OPV
6 lat	DT, OPV
7 lat	przeciw odrze
(po 6 tygodniach po odrze)	BCG
11 lat	OPV
12 lat	BCG
13 lat	różyczka (tylko ♀)
14 lat	Td
18 lat	BCG (przy (-) próbie tuberkulinowej)
19 lat	Td (i powtarzać co 10 lat)

HepB – szczepionka przeciwko HBV (hepatitis B)

BCG – szczepionka przeciwko gruźlicy (*Bacillus Calmette – Guerin*)

DTP – szczepionka przeciwko błonicy, tężcowi i krztuścowi (*diphtheria – tetanus – pertussis*)

Td – szczepionka przeciwko błonicy i tężcowi

OPV – doustna szczepionka przeciwko polio (oral polio vaccine)

MMR – szczepionka przeciwko odrze, śwince i różyczce (*measles – mumps – rubella*)

110. Pobieranie i przesyłanie materiału do badań wirusologicznych; metody diagnostyki w zakażeniach wirusologicznych

- I. Hodowla i izolacja wirusów są podstawą diagnostyki wirusologicznej. Mają jednak kilka istotnych wad, takich jak długi czas badania (wirusy namnażają się kilka dni do kilku tygodni) oraz ryzyko zakażenia pracowników laboratorium.
 1. Hodowla – Ponieważ wirusy nie namnażają się na sztucznych pożywkach, muszą być hodowane albo w hodowlach komórkowych, albo w innych żywych układach.
 - a) zakażenie zarodków kurzych jest stosowane do namnażania niektórych wirusów, np. świnki i grypy,

- b) w przeszłości wirusami zakażano myszy i szympansy,
- c) Najczęściej stosowaną techniką izolacji jest namnażanie w hodowlach komórkowych. Technika ta umożliwiła badania replikacji wirusowej, otrzymywanie zmutowanych, atenuowanych szczepów wirusowych oraz opracowanie szczepionek przeciwwirusowych. Wyróżniamy kilka typów hodowli:
 - pierwotne – przygotowywane ze świeżo izolowanych tkanek, nie mogą być pasażowane, należy je wykorzystać w ciągu 2 – 3 tygodni,
 - diploidalne – sporządzane z komórek, które mogą być pasażowane 20 – 30 x,
 - heteroploidalne – sporządzane z unieśmiertelnionych linii komórkowych, więc mogą być pasażowane nieskończenie długo.

Nie wszystkie wirusy mogą namnażać się we wszystkich liniach komórkowych. Wirus zakaża i replikuje się tylko w komórce zawierającej odpowiedni dla niego receptor (komórka permisywna = zezwalająca). Aby wyizolować nieznaną wirus, materiałem diagnostycznym zakaża się 3 – 4 linie komórkowe w nadziei, że co najmniej jedna z nich okaże się linią permisywną dla poszukiwanego wirusa.

Metody wykrywania wirusów w hodowlach komórkowych:

- obserwacja zmian cytopatycznych – W następstwie replikacji wirusa w jednowarstwowej hodowli komórkowej pojawiają się zmiany cytopatyczne. Typ zmian może sugerować zakażenie wirusem należącym do określonej rodziny lub grupy rodzin, ale jednoznaczne określenie gatunku wirusa zazwyczaj nie jest możliwe. Przykłady zmian cytopatycznych:
 - herpeswirusy → utrata typowego układu i zaokrąglenie się komórek,
 - paramiksovirusy (odra, RSV) → komórki zlewają się ze sobą tworząc zespólnie (syncytia),
 - CMV → ogniska lizy komórek,
 - W zakażonych komórkach mogą powstawać ciała wtętowe, które po zabarwieniu można obserwować w mikroskopie świetlnym – kształt i umiejscowienie bywają charakterystyczne dla niektórych wirusów.
 - hemadsorpcja – Wykorzystuje fakt, iż niektóre wirusy wbudowują w błonę zakażonej komórki hemaglutyniny. Dlatego dodane do hodowli erythrocyty są adsorbowane na powierzchni komórek, nadając im wygląd kiści winogron.
 - hemaglutynacja – Jeżeli wirus posiada w swej osłonce hemaglutyniny, to po zmieszaniu pożywki z zawieszoną erythrocytów ulegają one zlepianiu (aglutynacji).
 - interferencja wirusowa z efektem cytopatycznym – może być stosowana do wykrycia wirusów, które nie wywołują zmian morfologicznych zakażonych komórek, ale uniemożliwiają zakażenie linii komórkowej innym wirusem, wywołującym charakterystyczne zmiany cytopatyczne, np. interferencja wirusa różyczki z wirusem ECHO
2. Izolacja – Dokładna identyfikacja wirusa namnożonego w hodowli wymaga zastosowania dodatkowych badań.
- a) Obserwacja budowy morfologicznej wirionów jest możliwa wyłącznie za pomocą mikroskopii elektronowej. Jest to technika trudna i kosztowna, a nie zawsze pozwala na pełną identyfikację wirusa.
 - b) W większości przypadków dokładną identyfikację wirusa przeprowadza się stosując metody serologiczne:
 - Neutralizacja: swoiste przeciwciała miesza się z nieznaną wirusem, po czym zakaża się nową hodowlę; brak zmian cytopatycznych świadczy o neutralizacji, co umożliwia identyfikację.
 - Zahamowanie hemadsorpcji: przeciwciała miesza się z wirusami, po czym zakaża się nową hodowlę; brak adsorpcji świadczy o związaniu wirusa i pozwala na identyfikację.
 - Zahamowanie interferencji wirusowej: do pożywki dodaje się przeciwciała skierowane przeciwko wirusowi interferującemu, zakaża nową hodowlę i wprowadza wirus cytopatyczny; efekt cytopatyczny świadczy o związaniu pierwszego wirusa ze swoistymi przeciwciałami.
 - Immunofluorescencja bezpośrednia – szybka, swoista i stosunkowo prosta: z hodowli wykonuje się preparat mikroskopowy w postaci rozmazu komórek, po czym dodaje się wzorcowych przeciwciał monoklonalnych znakowanych fluorochromem i obserwuje w mikroskopie fluorescencyjnym.
 - Mikroskopia immunoelektronowa – do określania przynależności gatunkowej wirusa stosuje się wzorcowe przeciwciała znakowane znacznikiem o dużej gęstości elektronowej.

II. Serologia – W wielu przypadkach łatwiej jest zidentyfikować wirusy w sposób pośredni, za pomocą badania swoistych przeciwciał występujących we krwi chorego.

Określenie ogólnego poziomu przeciwciał nie umożliwia rozróżnienia między przeciwciałami powstałymi w odpowiedzi na ostre zakażenie a przeciwciałami, które powstają w organizmie po wcześniej przeżytym zakażeniu. Do postawienia rozpoznania zwykle jest wymagane potwierdzenie znamiennego wzrostu miana swoistych przeciwciał skierowanych przeciw określonemu wirusowi na podstawie badania dwóch próbek krwi. Pierwszą próbkę pobiera się w ostrym okresie choroby, a drugą w okresie rekonwalescencji (po 2 – 3 tygodniach). Jest to rozpoznanie retrospektywne, o znaczeniu epidemiologicznym.

Techniki serologiczne z wykorzystaniem fazy stałej (immunoenzymatyczne i radioimmunologiczne) umożliwiają odróżnienie przeciwciał IgG od IgM. Zwiększenie poziomu tych drugich jest dowodem niedawnego zakażenia.

Próbki krwi do badań serologicznych należy pobierać jak najwcześniej po wystąpieniu objawów choroby oraz powtórnie po 2 – 3 tygodniach. Dostarczenie dwóch próbek krwi jest niezwykle istotne, gdyż badanie zwykle nie ma wartości bez rozpatrzenia próbki pobranej w okresie rekonwalescencji (na podstawie wartości tylko jednego miana przeciwciał nie można odróżnić niedawnej ekspozycji na wirusy od zakażenia przebytego w przeszłości). Co najmniej 4x wzrost miana przeciwciał w próbce drugiej w stosunku do pierwszej jest potwierdzeniem zakażenia pacjenta w okresie pobrania pierwszej próbki. Na próbkach przesyłanych do laboratorium musi być podana informacja, jaki wirus jest podejrzany o wywołanie choroby u pacjenta.

Techniki serologiczne:

- a) Zahamowanie hemaglutynacji – zakażony pacjent wytwarza przeciwciała przeciw hemaglutyninom wirusa, których występowanie można wykazać dzięki ich zdolności do hamowania hemaglutynacji.
- b) Odczyn wiązania dopełniacza – niekiedy jedyny odczyn potwierdzający rozpoznanie, umożliwia wykrycie przeciwciał wiążących dopełniacz (IgG i IgM), bez możliwości odróżnienia ich od siebie.
- c) Odczyn immunofluorescencji bezpośredniej – materiał inkubuje się z przeciwciałami przeciwwirusowymi znakowanymi fluoresceiną, po czym obserwuje w mikroskopie fluorescencyjnym.
- d) Odczyn immunoenzymatyczny (EIA) – swoisty, uniwersalny i stosunkowo prosty, zastąpił większość innych technik immunologicznych. EIA można stosować do wykrywania zarówno antygenów, jak i przeciwciał – można je przystosować do wykrywania swoistych IgM, a testy niektóre antygenowe pozwalają na badanie diagnostyczne w ciągu 10 min.

Western blotting (immunoblotting) jest najszerzej stosowaną techniką potwierdzającą wynik badania przeciwciał anti-HIV metodą immunoenzymatyczną. Odczyn składa się z trzech zasadniczych etapów:

- rozdzielenie antygenów wirusa na sicie molekularnym PAGE → wyodrębnienie antygenów zgodnie z ich wielkością → przeniesienie na błonę nitrocelulozową →
- → pokrycie błony surowicą pacjenta →
- → wypłukanie nie związanych białek → naniesienie surowicy skierowanej przeciwko ludzkim Ig i znakowanej enzymem → dodanie substratu → reakcja enzymatyczna → kompleksy ujawniają się w postaci barwnych prążków.

III. Hybrydyzacja DNA opiera się na wykrywaniu genomów wirusowych za pomocą hybrydyzowania wirusowego DNA z nicią komplementarną. W najprostszej formie testu bada się zdolność hybrydyzowania wirusowego DNA ze znakowaną, komplementarną nicią DNA, z którą mogą być sprzęgane różne znaczniki (enzymy, izotopy radioaktywne). Wykrycie hybrydyzacji wymaga zwykle rozdzielenia na sicie molekularnym PAGE – umożliwia to porównanie ruchliwości elektroforetycznej nici komplementarnej oraz jej kompleksów z wirusowym DNA. Reakcja PCR zwiększa czułość hybrydyzacji DNA przez zwielokrotnienie ilości wirusowego DNA zawartego w próbce pobranej od pacjenta (przydatne, gdy potrzebne jest szybkie rozpoznanie, a materiał diagnostyczny zawiera niewiele DNA).

111. Pobieranie i przesyłanie materiałów do badań mikrobiologicznych

a) ogólne zasady pobierania i przesyłania materiału do badań mikrobiologicznych

Materiał należy pobrać:

- z miejsca zmienionego chorobowo,
- przed rozpoczęciem antybiotykoterapii (wyjątkowo – jeśli pacjent jest w trakcie antybiotykoterapii – przed kolejną dawką leku).

W zależności od rodzaju materiału jest on pobierany:

- do jałowego pojemnika (mocz, kał, płwocina),
- na wymazówkę (zwilżoną jałową solą fizjologiczną przy pobieraniu wymazu z błon śluzowych, skóry, suchych powierzchni),
- na zestaw transportowy ogrzany do temperatury pokojowej (posiew w kierunku beztlenowców),
- na podłoże hodowlane ogrzane do temperatury ciała ludzkiego (krew, płyny).

Pobrany materiał należy opisać podając imię i nazwisko pacjenta, oddział, rodzaj materiału, datę i godzinę jego pobrania. Do każdego materiału należy dołączyć skierowanie, w którym oprócz w. w. informacji należy podać także wstępne rozpoznanie i ewentualne leczenie (stosowane antybiotyki).

Materiał powinien być natychmiast przekazany do laboratorium. Wyjątkami od tej zasady są:

- materiały pobrane na podłoża transportowe – mogą być przechowywane w temperaturze pokojowej 2 – 3 dni (kilka godzin w zakażeniach beztlenowcowych),

- materiały pobrane na podłoża hodowlane – mogą być inkubowane w temperaturze 37°C (jeżeli na oddziale jest ciepłarnia); przesyłając materiał do pracowni należy podać czas inkubacji,
 - mocze – mogą być przechowywane przez 2 – 4 godziny, jednak wyłącznie w temperaturze pokojowej.
- Wstępne wyniki badań mikrobiologicznych można uzyskać po 24 – 48 godzinach. Wyniki ostateczne wraz z antybiogramem po 3 – 4 dniach. Badania w kierunku beztlenowców trwają do 10 dni.
- W przypadku badań specjalistycznych np. w kierunku *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp. lub wirusów należy skontaktować się z pracownią wykonującą te badania.

b) krew

Badanie mikrobiologiczne krwi jest wykonywane w przypadku wystąpienia gorączki z objawami SIRS, zakażeń narządowych lub układowych z towarzyszącym złym stanem ogólnym (zapalenie płuc, ZUM, zakażenie pooperacyjne), zapalenia wsierdza, obecność linii naczyniowej z towarzyszącymi zmianami w miejscu wkłucia i / lub złym stanem ogólnym.

Zasady pobierania krwi

Krew należy pobrać:

- na podłożu hodowlane zabezpieczające wzrost bakterii tlenowych i beztlenowych (dwa oddzielne podłoża lub jedno wspólne) ogrzane do temperatury 37°C,
- najlepiej około 30 min. przed spodziewanym szczytem gorączki,
- w warunkach aseptycznych (jałowe rękawiczki, dezynfekcja miejsca wkłucia),
- u dorosłych 10 – 30 ml, u dzieci 1 – 5 ml,
- z uwzględnieniem stosunku objętości próbki do objętości podłoża 1:5 lub 1:10 (w przypadku podłoża do systemów automatycznych np. BACTEC, VITAL wg instrukcji producenta)

Krew do badania mikrobiologicznego nie może być pobierana przez cewniki z wyjątkiem diagnostyki zakażenia odcewnikowego. Pobrane próbki należy chronić przed ochłodzeniem.

Liczba pobieranych próbek w zależności od rozpoznania:

- gorączka z objawami SIRS: 2 – 3 próbki pobrane z różnych wkłuc w ciągu 10 min,
- ostre zapalenie wsierdza: 3 próbki pobrane z różnych wkłuc w ciągu 1 – 2 h,
- podostre zapalenie wsierdza: 3 próbki pobrane z różnych wkłuc w ciągu doby,
- gorączka o nieustalonej etiologii: 2 – 3 próbki z różnych wkłuc w odstępie 1 h; jeżeli wynik posiewu po 24 h jest ujemny, należy pobrać 2 – 3 nowe próbki,
- podejrzenie zakażenia o etiologii grzybiczej: 3 próbki z różnych wkłuc pobrane co 30 min.; krew pobierana jest także w grzybiczych zakażeniach OUN, dróg oddechowych, moczowych i zakażeniach gałki ocznej.

Diagnostyka zakażenia odcewnikowego

Materiałem do badania jest:

1. końcówka cewnika + 2 próbki krwi pobrane z obwodu
Cewniki naczyniowe – po usunięciu cewnika przytrzymując koniec jałową pensetą należy odciąć jałowymi nożyczkami końcówkę (ok. 3 – 5 cm) i umieścić ją w jałowym pojemniku.
W przypadku zmian zapalnych w miejscu wkłucia oprócz końcówki cewnika należy także pobrać wymaz z miejsca wkłucia.
2. parzyste próbki krwi: krew pobrana z obwodu + krew pobrana przez cewnik
Próbki krwi należy pobrać w tym samym czasie, opisując ich pochodzenie (cewnik, obwód).

Pobranie krwi do badań serologicznych – należy pobrać ok. 5 ml krwi do plastikowej próbówki (bez antykoagulantów) i przesłać do laboratorium w dodatkowym opakowaniu (pojemniku), zabezpieczającym przez kontaktem próbówki ze środowiskiem zewnętrznym.

Płyny wysiękowe, wydzieliny z drenów

Materiały te należy pobrać:

- bezpośrednio posiewając je na podłoża do tlenowego i beztlenowego posiewu krwi, o ile to możliwe z zachowaniem wskazanej proporcji (objętość próbki do podłoża 1:10 lub 1:20) lub wskazań producenta podłoża,
- do jałowej próbówki w celu wykonania preparatu bezpośredniego.

Płyny punkcyjne pobierać należy z zachowaniem zasad aseptyki, po dokładnej dezynfekcji miejsca wkłucia. Treść z drenu najlepiej uzyskać przez punkcję układu drenującego w pobliżu wyjścia drenu z powłok ciała. Po zdezynfekowaniu miejsca wkłucia należy pobrać materiał, zmienić igłę i wprowadzić zawartość strzykawki do

podłóż wzrostowych i / lub jałowego pojemnika. Wyjątkowo, jeżeli po nakłuciu nie ma możliwości wymiany układu drenującego, materiał można pobrać do jałowego pojemnika rozłączając układ.

c) OUN

Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) jest pobierany przez nakłucie lędźwiowe w warunkach aseptycznych:

- co najmniej 1 ml płynu należy jałową igłą wsiać do podłoża hodowlanego (Meningomedium, podłoże do posiewu krwi, a w infekcjach grzybiczych – podłoże Sabourauda) ogrzanego do 37^oC i możliwie jak najszybciej przetransportować próbkę do laboratorium w warunkach zabezpieczających przez jej schłodzeniem (termos, termo-torba),
- około 2 ml płynu należy pobrać do jałowej próbówki lub pojemnika w celu wykonania preparatu bezpośredniego i szybkich testów w kierunku H. influenzae, N. meningitidis, S. pneumoniae i grzybów,
- około 3 ml pobranego płynu należy pobrać do próbówki w celu wykonania badań analitycznych.

Infekcje OUN mogą przebiegać z bakteremią (obecność bakterii we krwi), stąd do badania mikrobiologicznego równoległe z PRM należy pobrać krew.

Wydzieliny ropne

Zmiany powierzchniowe – badanie w kierunku bakterii tlenowych

Miejsce pobrania należy przemyć jałową solą fizjologiczną; pobranie zależy od rodzaju wydzieliny:

- wydzielina ropna obfita – pobierana strzykawką do jałowego pojemnika,
- skąpa wydzielina – pobierana na wymazówkę (zaleca się pobranie dwóch wymazów, z których jeden jest przeznaczony do posiewu na podłoża hodowlane a drugi do wykonanie preparatu bezpośredniego).

Zmiany głębokie – badanie w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych.

- ropnie zamknięte – nakłucie lub nacięcie ropnia; przed zabiegiem odkazić skórę 70% alkoholem, pobierając odrzucić pierwszą partię ropy,
- z zmianach otwartych – okolice zmiany ropnej należy przemyć jałową solą fizjologiczną, materiał poznać z dna zmiany.

Materiał należy pobrać na: podłoże transportowe lub na podłoża do tlenowego i beztlenowego posiewu krwi oraz do jałowego pojemnika lub na wymazówkę (w celu wykonania preparatu bezpośredniego).

d) układ pokarmowy

Materiały do badań:

- wymaz z odbytu – w kierunku SS (Salmonella, Shigella), pobierany jałową wymazówką wprowadzoną poza zwieracz odbytu; po pobraniu należy umieścić ją w 5 – 10 ml buforu fosforanowego (SF),
- kał – z kału oddanego do jałowego basenu, grudkę wielkości orzecha laskowego należy pobrać do jałowego pojemnika; uwzględnić zwłaszcza obecność śluzu i krwi,
- biopapy z żołądka – badanie w kierunku H. pylori,
- badanie w kierunku C. difficile – do jałowego pojemnika pobrać grudkę kału lub 1 – 2 ml płynnej wydzieliny (nie przechowywać).

W przypadku podejrzenia zakażenia o etiologii wirusowej należy pobrać kał w okresie objawowym na początku choroby w celu izolacji wirusa (zakażenia entero- i adenowirusami z wysypką plamisto – grudkową, zakażenie wirusem polio) lub w celu identyfikacji antygenów wirusowych w kale (rotawirusy). Jeżeli próbka kału nie może być natychmiast przesłana do laboratorium należy ją zamrozić do temperatury –20^oC (w przypadku badań mających na celu izolację wirusa) lub przechowywać w lodówce.

e) drogi oddechowe

Materiały z górnych dróg oddechowych:

- wymaz z przedsionka nosa – badanie w kierunku nosicielstwa S. aureus (wymazy należy pobrać z obydwu przedsionków),
- wymaz z migdałków – ropnie, anginy; w przypadku anginy Plauta – Vincenta lub błonicy pobierane są 2 wymazy (posiew + preparat bezpośredni),
- wymaz z tylnej ściany gardła – infekcje nosogardzieli,
- wymaz spod nagłośni – badania w kierunku Mycoplasma spp., Chlamydia spp.,
- wymaz z jamy ustnej – stany zapalne błon śluzowych.

Wymazy z migdałków, tylnej ściany gardła i jamy ustnej należy pobrać rano, przed wykonaniem toalety jamy ustnej, ale po uprzednim wypłukaniu jej świeżo przegotowaną wodą.

Materiały z dolnych dróg oddechowych:

- płwocina – odkrztuszona do jałowego pojemnika rano, po wykonaniu toalety jamy ustnej i przepłukaniu jej przegotowaną wodą,
- wydzielin oskrzelowa odsysana u pacjentów zaintubowanych, pobrana o jałowego pojemnika,
- bronchoaspirat,
- popłuczyny pęcherzykowo – oskrzelowe (BAL), wydzielina pobrana metodą „szczoteczkową” – najbardziej wiarygodne materiały do badań mikrobiologicznych,
- biopaty z płuca i opłucnej (w przypadku ropni),
- płyn opłucnowy.

Tkanki i biopaty należy pobrać do pojemnika z małą ilością jałowej soli fizjologicznej.

W zakażeniach dolnych dróg oddechowych dodatkowo pobierane są także:

- krew (w 30% zapaleń płuc występuje bakteremia),
- surowica płuc w atypowym (*Mycoplasma* spp., *Legionella* spp.) i grzybiczym zapaleniu płuc (do oznaczania przeciwciał lub antygenów)

f) układ moczowo – płciowy

Mocz do badania mikrobiologicznego można pobrać:

- ze środkowego strumienia:
 - rano lub co najmniej po 4 godzinach od ostatniej mikcji,
 - po dokładnym umyciu okolic cewki moczowej wodą z mydłem (splukać pod bieżącą wodą, nie wycierać lub osuszyć jednorazowym ręcznikiem),
 - ze środkowej partii moczu, początkową część oddając do muszli (zawiera drobnoustroje kolonizujące ujście cewki moczowej)
- przez punkcję układu drenującego u pacjentów cewnikowanych:
 - zacisnąć cewnik moczowy na 15 – 30 minut przed pobraniem moczu,
 - przed pobraniem próbki zdezynfekować miejsce wkłucia do cewnika, uwolnić zacisk, a po zdrenowaniu kilkunastu ml moczu nakłuć cewnik i pobrać próbkę o objętości co najmniej 1 ml,
 - cewnik, w którym nie ma specjalnego miejsca przeznaczonego do wkłucia (oznaczony fragment wykonany z samouszczelniającego się materiału) po pobraniu moczu należy wymienić
- przez nakłucie nad spojeniem łonowym pełnego pęcherza – metoda rzadko stosowana, umożliwiającą diagnostyką w kierunku bakterii beztlenowych.

Mocz można pobrać do jałowego pojemnika (około 5 ml) lub na podłoże wzrostowe np. Uriline (jałowy pojemnik + szpatułka z podłożem przytwierdzona do nakrętki – w pobranym moczu należy zanurzyć płytkę pokrytą agarem, następnie usunąć mocz do muszli, a pojemnik z podłożem szczelnie zamknąć). Materiał pobrany do pojemnika należy przesłać natychmiast do laboratorium, a jeżeli to nie jest to możliwe, można przechowywać go 2 – 4 h wyłącznie w temperaturze 4°C. Próbkę pobraną na podłoże wzrostowe do momentu przesłania do laboratorium przechowywać w cieplarni (temp. 37°C) lub pozostawić w temperaturze pokojowej.

Przy podejrzeniu zakażenia grzybiczego należy pobrać (w. w. metodami) 10 ml moczu; można przechowywać go w temperaturze 4°C do 14 godzin.

Inne materiały:

- wymaz z pochwy
 - zapalenie pochwy – wymaz ze ściany pochwy pobrany na podłoże transportowe (wskazane badanie jakościowe i ilościowe),
 - podejrzenie rzęsistkowicy – materiał pobrany z tylnego sklepienia pochwy lub dolnej łyżki wziernika umieszczony w soli fizjologicznej
- wydzielina z cewki moczowej – pobierana głównie u mężczyzn w przypadku podejrzenia zakażenia *Chlamydia* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp., gonokokami; po uprzednim oczyszczeniu okolic ujścia cewki wacikiem zwilżonym w soli fizjologicznej materiał należy pobrać wymazówką (tak pobierana jest wydzielina uzyskana w wyniku zewnętrznego ucisku cewki ku przodowi) lub eżą wprowadzoną do cewki na głębokość około 2 cm
- wymaz z szyjki macicy – pobieranie u kobiet do badań w kierunku *Chlamydia* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp., gonokoków.

Materiał do badania z pochwy i szyjki macicy należy pobrać po założeniu jałowego wziernika. W przypadku podejrzenia zakażenia gonokokami wydzielina z cewki moczowej i szyjki macicy bezwzględnie powinna być pobrana jałową eżą, ponieważ wymazówka (bawełna) może hamować wzrost gonokoków.

g) oko

Wskazaniem do pobrania materiału są ropne i nieropne stany zapalne oczu, owrzodzenia, zmiany martwicze. Materiały do badań to:

- wymaz z worka spojówkowego z obydwu oczu – wymaz z oka zdrowego jest tu kontrolą,
- suche, złuszczone zmiany pobrane jałową szpatułką lub skalpelem do jałowego pojemnika,
- wydzielina pobrana jałową eżą i posiana bezpośrednio na podłoże hodowlane,
- jałowa nić (z naturalnego tworzywa, długości ok. 1 cm) umieszczona w worku spojówkowym.

h) ucho

- ucho zewnętrzne – wymaz lub wydzielina pobrana do jałowego pojemnika – badanie w kierunku bakterii tlenowych,
- ucho środkowe i wewnętrzne – materiał należy pobrać do jałowej probówki lub na podłoże transportowe uprzednio oczyszczając zewnętrzne przewody słuchowe jałową wodą destylowaną lub solą fizjologiczną; badanie powinno być przeprowadzone w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych

i) materiały śródoperacyjne

- ropa i płyny wyciekowe – jak wyżej,
- tkanki – umieścić w jałowym pojemniku w niewielkiej ilości jałowej soli fizjologicznej i natychmiast przesłać do badania

ZAKAŻENIA UKŁADOWE – CZYNNIKI ETIOLOGICZNE I DIAGNOSTYKA

112. ZUM

Pierwszy epizod pozaszpitalnego ZUM w ponad 90% przypadków wywołany jest przez G(-) pałeczki jelitowe, wśród których dominuje *Escherichia coli*. Rzadziej występują inne bakterie G(-), głównie *Proteus*, *Klebsiella*, bakterie G(+) gronkowce, paciorkowce, enterokoki oraz bardzo rzadko grzyby (u diabetyków nieco częściej), wirusy (HSV, Adenowirusy). Nawroty zakażeń pozaszpitalnych wywołane są w 65-75% przez *E. coli*. Wśród drobnoustrojów wywołujących szpitalne ZUM również dominuje *E. coli* (około 50%), jednak duży udział mają wielooporne drobnoustroje z rodzajów *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, a także gronkowce, enterokoki i grzyby. U pacjentów z cewnikiem wprowadzonym na stałe do pęcherza moczowego obserwuje się początkowo dominujący udział *E. coli*, z czasem zastępowany przez drobnoustroje Gram(-) *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* oraz Gram(+) gronkowce, enterokoki. W przypadku odczynu alkalicznego (pH>7) moczu należy brać pod uwagę obecność bakterii metabolizujących mocznik dzięki produkcji ureazy (*Klebsiella*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*). W niektórych przypadkach (szczególnie u pacjentów z pierwotnymi lub wtórnymi zaburzeniami odporności) należy brać pod uwagę udział wirusów, np. zapalenie cewki moczowej wywołane przez wirus Herpes simplex (HSV). W różnicowaniu należy również uwzględnić krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego u chłopców w wieku szkolnym wywołane przez Adenowirusy 11, 21 oraz gruźlicę układu moczowego. Przypadki izolacji z moczu flory mieszanej, szczególnie z udziałem dyfteroidów należy uznać za błąd przedlaboratoryjny (nieprawidłowe pobranie lub transport) i zalecić powtórzenie badania traktując wynik jako fałszywie dodatni.

W praktyce klinicznej wykonuje się następujące sposoby pobierania moczu:

- a) mocz pobrany ze środkowego strumienia – Mocz powinien być pobrany rano co najmniej 4 godz. po ostatniej mikcji. Pobraną próbkę należy natychmiast umieścić w lodówce (+4°C) i dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godz. od pobrania.
- b) mocz pobrany od chorego z zamkniętym systemem kolekcji - Mocz pobiera się wkłuwając igłę ze strzykawką do cewnika po uprzednim wyjałowieniu jego powierzchni i aspiruje 0,5 ml do jałowego pojemnika. Nie należy pobierać z kolektora.
- c) mocz pobrany przez nakłucie nadłonowe,
- d) pobieranie moczu z moczowodów,
- e) mocz pobrany z moczowodu wyprowadzonego na powłoki,
- f) pobieranie moczu w zakażeniach gruczołu krokowego
Pobiera się mocz ranny w 3 próbkach po 10 ml. Pierwszą próbkę po oczyszczeniu ujścia cewki bezpośrednio po rozpoczęciu oddawania moczu, drugą ze strumienia środkowego, a trzecią po masażu gruczołu krokowego. Jeżeli liczba bakterii w 3 próbie jest 10-krotnie wyższa w porównaniu z 1 i 2 próbką. Świadczy to o zakażeniu gruczołu krokowego. Wysoka liczba bakterii w 1 próbce świadczy o zapaleniu cewki moczowej, a w 2 próbce o zakażeniu pęcherza i górnych dróg moczowych.

- g) pobieranie moczu przy podejrzeniu gruźlicy układu moczowego – w każdym przypadku konieczny jest co najmniej 6-12 krotny posiew pełnej porcji moczu nocnego

W diagnostyce ZUM przydatne stają się także:

- a) szybkie testy paskowe (badanie ogólne)
- wykrywające obecność esterazy leukocytów - umożliwiające stwierdzenie ropomoczu,
 - wykrywające azotyny w moczu – orientacyjne potwierdzenie bakteriurii
- b) test Golda – wykrywający obecność czynników hamujących wzrost bakterii w moczu, wykonywany równocześnie z posiewem moczu

Interpretacja wyniku mikrobiologicznego ilościowego badania moczu

Ostateczne potwierdzenie zakażenia uzyskuje się przez wyizolowanie drobnoustrojów z moczu. Do rozpoznania ZUM niezbędne jest stwierdzenie bakterii w moczu w mianie przekraczającym umownie przyjętą granicę, tzw. znamiennej bakteriurii (bakteriomoczu). Rozpoznanie znamiennej bakteriurii zależy od metody pobrania moczu, wieku pacjenta, funkcji nerek, postaci zakażenia i czasu przebywania moczu w pęcherzu. W warunkach fizjologicznych moczu, który został pobrany bezpośrednio przez nakłucie pęcherza moczowego jest jałowy, natomiast moczu pobrany z pęcherza moczowego przez cewnikowanie może zawierać do 100 komórek w 1 ml moczu ($\leq 10^2$ kom/ml), a metodą tzw. środkowego strumienia może zawierać do 1000 komórek ($\leq 10^3$ kom/ml).

- $>10^5$ komórek/ml, to wartość bakteriurii uznawana tradycyjnie za znamiennej. Kryterium to spełniają pacjenci z ostrym odmiedniczkowym zapaleniem nerek
- $>10^4$ komórek/ml, to wartość bakteriurii uznawana u dzieci za znamiennej. Posiewy nie zawsze pobierane są "po nocy", więc zakładamy większe rozcieńczenie drobnoustrojów w moczu pobieranym w ciągu dnia. Wymagane jest uzyskanie czystej hodowli bakterii, lecz czasem niektóre pałeczki Gram (-) powodują zakażenia mieszane, np. *Pseudomonas* może występować z pałeczką *Proteus* lub *Klebsiella* (dotyczy to najczęściej pacjentów po zabiegach chirurgicznych)
- $10^3 - 10^2$ komórek/ml, to wartości bakteriurii przyjmowane za znamiennej, tj. świadczące o zakażeniu dróg moczowych w określonych sytuacjach; w takiej sytuacji zawsze wymagane jest uzyskanie czystej hodowli, występowanie klinicznych objawów zakażenia układu moczowego oraz obecności zmian w badaniu ogólnym moczu. Wartość ta jest znamiennej w przypadku:
 - pałeczek *Escherichia coli*, charakteryzujących się szczególnym powinowactwem do nabłonków dróg moczowych (fimbrie P) oraz wysoką immunogennością, która powoduje rozwój stanu zapalnego w nerkach;
 - pałeczek *Pseudomonas aeruginosa*, które charakteryzują się zdolnością długotrwałej kolonizacji oraz wywoływania uporczywych, nawracających i trudno leczących się zakażeń układu moczowego; powodem uporczywego zakażenia jest zdolność *Pseudomonas aeruginosa* do wytwarzania dużych ilości polisacharydów otoczkowych oraz tworzenia mikrokolonii, do których nie przenika antybiotyków podczas leczenia;
 - pałeczek *Proteus* sp. i innych drobnoustrojów rozkładających mocznik (*Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*) u pacjentów z kamicią układu moczowego; złogi struwitowe są zwykle zakażone, wyjałowienie ich podczas antybiotykoterapii jest niemożliwe - u tych pacjentów stale występuje wysiew pewnej ilości bakterii do moczu;
 - pacjentów w trakcie antybiotykoterapii lub profilaktyki antyrefluksowej – izolacja czynnika etiologicznego zakażenia może wskazywać na brak skuteczności leczenia, np. w wyniku nabycia oporności bakterii na stosowany lek.

Nawrót ZUM jest rozpoznawany w wyniku izolacji z moczu tego samego gatunku drobnoustroju w ciągu 2-3 tygodni od zakończenia leczenia przeciwbakteryjnego. Nadkażenie układu moczowego jest rozpoznawane na podstawie izolacji innego niż pierwotnie gatunku drobnoustroju z moczu w ciągu 2-3 tygodni od zakończenia leczenia przeciwbakteryjnego.

Posiew na: AK, MC, Sab; posiew ilościowy: 10^{2-3} /ml → OK, a 10^{4-6} /ml → bakteriuria znamiennej.

113. Zakażenia przewodu pokarmowego

Czynniki etiologiczne:

- Bakterie:
 - ziarniaki Gram – dodatnie: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp.,
 - laseczki Gram – dodatnie zarodnikujące:
 - beztlenowe: *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*
 - tlenowe: *Bacillus cereus*
 - pałeczki Gram – ujemne: Rodzina *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., i inne), pałeczki niefermentujące np.: *Pseudomonas aeruginosa*
 - bakterie spiralne: *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp., *Helicobacter* spp.
 - rzadko izolowane: *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides*.
- Grzyby – przede wszystkim *Candida* spp.
- Pasożyty – pierwotniaki i robaki
- Wirusy: rotawirusy, adenowirusy, „małe okrągłe wirusy – SRV, kaliciwirusy, koronawirusy, astrowirusy

Diagnostyka zakażeń wirusowych:

- 1) mikroskopia elektronowa próbek kału – umożliwi wykazanie w badanym materiale wszystkich znajdujących się w nim wirusów, co niekoniecznie jest równoznaczne z wykazaniem związku przyczynowego danych wirusów z zakażeniem
- 2) mikroskopia elektronowa + metody immunologiczne - immunomikroskopii elektronowej
- 3) swoiste testy służące do wykrywania poszczególnych wirusów:
 - testy immunoenzymatyczne (ELISA) na wykrywanie rotawirusów i adenowirusów,
 - identyfikacja kwasów nukleinowych rota – i adenowirusów za pomocą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE).

Diagnostyka zakażeń grzybiczych:

Diagnostyka polega na posiewie próbki kału na podłoże Sabourauda. Rozpoznanie ustala się na podstawie charakterystycznej morfologii kolonii na podłożu hodowlanym i komórek grzyba w preparatach barwionych metodą Grama lub błękitem metylenowym.

W diagnostyce zakażeń przewodu pokarmowego do badań pobiera się: kał, wymaz z odbytu oraz popłuczyny z odbytu. W przypadku dłuższego czasu transportu (ponad 2 godziny), materiał diagnostyczny należy przesłać na podłożu transportowym (np. bulion seleninowo-fosforanowy (SF)). W przypadku masowych zatruc pokarmowych o charakterze toksykoinfekcji pobiera się: próbki surowców spożywczych, próbki pokarmu, treść przewodu pokarmowego (wymiociny), próbki kału.

Diagnostyka zakażeń bakteryjnych:

I. Posiew:

AK	podłoże Chapmana	MC	SS	SF
	Inkubacja 18-24 godz. w 37°C			48 godz.
	Izolacje z pojedynczych kolonii			
AK		MC	SS	MC, SS

Identyfikacja biochemiczna

<i>Staphylococcus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Shigella</i>

II. Typowanie serologiczne metodą aglutynacji szkiełkowej co najmniej 6-ciu kolonii izolowanych z pierwszego posiewu na agar zwykły

III. Badania ukierunkowane w kierunku: *Yersinia*, *Campylobacter*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile* oraz *Mycobacterium* spp.

114. Choroby weneryczne

Drogą kontaktów homo- i heteroseksualnych mogą być przekazywane zarówno bakterie, wirusy, grzyby drożdżopodobne jak i pierwotniaki. Niektóre z nich wywołują zmiany w obrębie narządów moczowo-płciowych, inne (HIV, CMV, HBV) wywołują zakażenia innych narządów, ale są przenoszone także drogą płciową. Mogą one również rozprzestrzeniać się drogą wertykalną (matka-płód) i wywoływać zakażenia wewnątrzmaciczne (wirusy, krętki) lub okołoporodowe (bakteria, grzyby, pierwotniaki).

- Bakterie: *Treponema pallidum* (kiła), *Neisseria gonorrhoeae* (rzeżączka), *Haemophilus ducrei* (wrzód miękki), *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* (nierzeżączkowe zapalenie cewki moczowej = NGU), *Klebsiella granulomatis* (ziarniniak pachwinowy).
- Grzyby: *Candida albicans* i *Candida sp.* oraz *Geotrichum sp.* (grzybice sromu, pochwy, napletka)
- Pierwotniaki: *Trichomonas vaginalis* (rzęsistkowica)
- Wirusy: HSV-1 i -2 (wirusy opryszczki – nawracające zmiany pęcherzykowe, rak narządów płciowych), HIV (AIDS), HPV (brodawki i kłykciny w obrębie narządów płciowych, rak szyjki macicy, pochwy, prącia, CMV (mięczak zakaźny), HBV (WZW-B), CMV (cytomegalia).
- Bakterie kolonizujące drogi płciowe mogące wywoływać zakażenia noworodka: *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* K1, (zakażenia OUN), *Staphylococcus aureus* (zmiany skórne, ropnie, zapalenia kości), *Bacteroides sp.*, *Fusobacterium sp.* (zakażenia ropne)

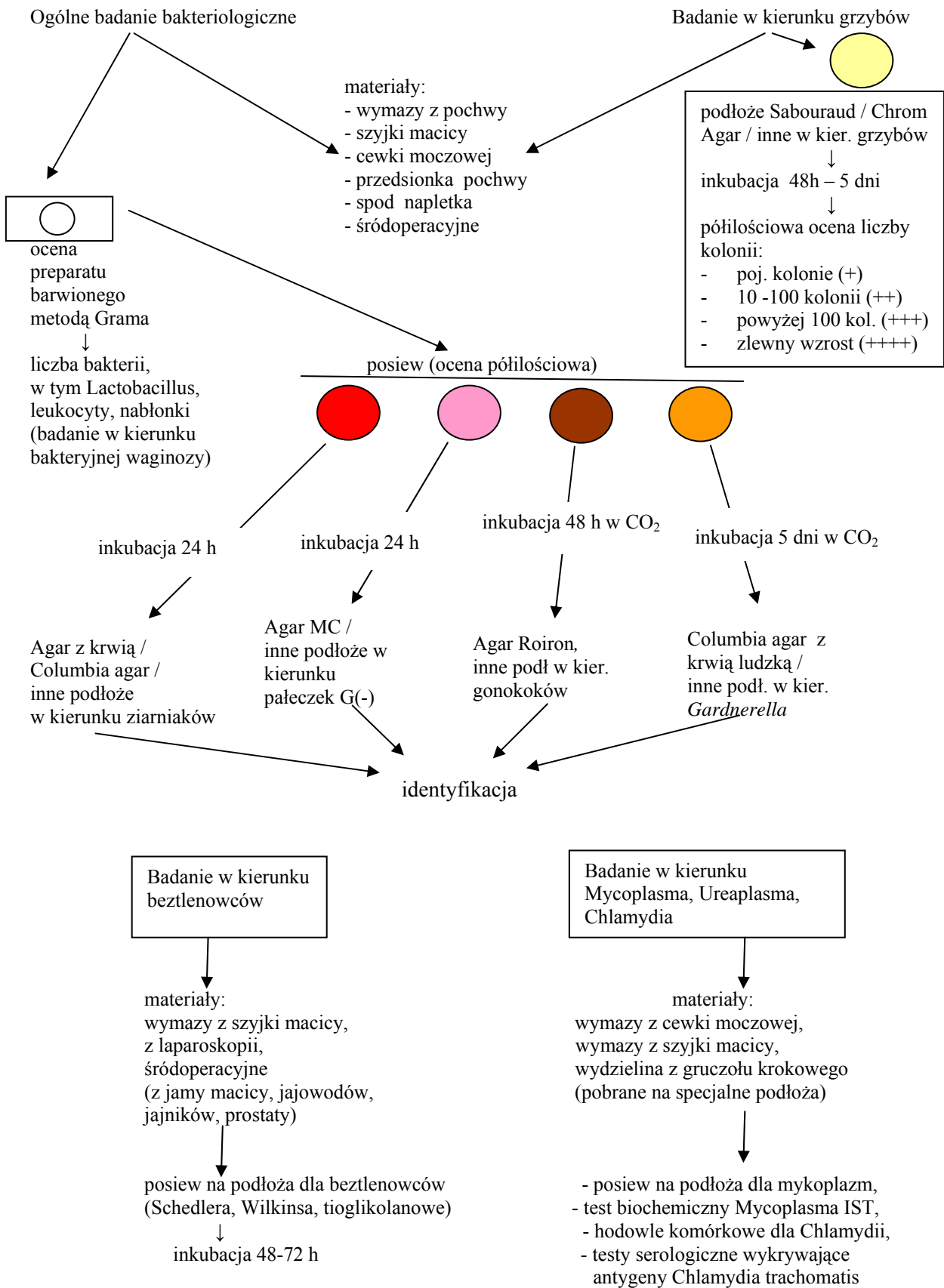
Rozpoznanie zakażeń dróg płciowych powinno opierać się o ocenę kliniczną oraz wyniki badań mikrobiologicznych. W ocenie klinicznej istotne są: aktywność seksualna, stosowana metoda antykoncepcji, rodzaj i czas trwania objawów, przyjmowane leki, przebyte zabiegi ginekologiczne i wcześniejsze zakażenia narządów płciowych. Natomiast w badaniach mikrobiologicznych należy wziąć pod uwagę wykładniki stanu zapalnego. Nieprawidłowy sposób pobrania materiału wyklucza na ogół możliwość izolacji flory patogennej, mającej często wysokie wymagania hodowlane. Dodatkowym utrudnieniem jest obecność bogatej i zróżnicowanej flory fizjologicznej okolic cewki moczowej, pochwy i szyjki macicy. Z tego powodu w przypadku izolacji gronkowców, paciorkowców, pałeczek jelitowych czy grzybów istotna jest ocena ilościowa i unikanie uznawania tych drobnoustrojów za czynnik etiologiczny zakażenia na podstawie jednorazowej izolacji.

Pobieranie materiałów z narządów moczowo – płciowych

Sposób pobrania materiału jest uzależniony od kierunku badania i lokalizacji miejsc zmienionych chorobowo. Materiał do badania należy pobrać rano, przed oddaniem moczu przez pacjenta lub co najmniej 3 godziny po ostatnim oddaniu moczu. Kobiety przed pobraniem próbki nie powinny stosować zabiegów higienicznych z użyciem środków odkażających oraz dopochwowych preparatów leczniczych.

Wszystkie materiały należy dostarczyć do pracowni w jak najkrótszym czasie od chwili pobrania. Próbkę dłużej przechowywane lub transportowane należy pobrać na odpowiednie podłoża transportowe lub transportowo – wzrostowe.

DIAGNOSTYKA MATERIAŁÓW POBRANYCH Z DRÓG PŁCIOWYCH



115. Diagnostyka kły – metody serologiczne (stwierdzenie obecności przeciwciał we krwi lub PMR chorego)

Odczyny serologiczne prócz prób z surowicą, można wykonywać także z płynem mózgowo-rdzeniowym. W przebiegu kły pierwotnej w 20-30% przypadków stwierdza się krętki blade w płynie mózgowo-rdzeniowym, w okresie kły wtórnej w 50-75% przypadków

A. Odczyny klasyczne (nieswoiste) – stosuje się antygen zastępczy – kardiolipinę (podobny w budowie do antygeny krętkowego, łatwiejszy i tańszy do uzyskania [krętki nie wzrastają na podłożach sztucznych – hodowla zwierzętach laboratoryjnych], bezpieczniejszy w stosowaniu niż hodowla żywych krętków). Odczyny nieswoiste wykrywają reaginy – przeciwciała wiążące dopełniacz (przeciwciała klasy IgG i IgM) skierowane przeciw lipidom krętkowym. Ich obecność stwierdza się od 2-3 tygodnia od wystąpienia objawu pierwotnego, najwyższy poziom notuje w okresie kły wtórnej.

Zastosowanie: badania profilaktyczne, diagnostyczne, ocena postępów i wyników leczenia.

W kile trzeciorzędowej i po leczeniu mogą być ujemne.

Wady: odczyny fałszywie dodatnie występują w przebiegu chorób takich jak: grypa, mononukleozę zakaźną, brucellozę, choroby reumatyczne, choroby autoimmunologiczne, a także ciąża i inne oddziaływania czynników toksycznych

- Testy mikroflokulacji:

VDRL (veneral diseases research laboratory) – odczyn kłaczujący, jakościowy lub ilościowy

USR (unheated serum reagin) – modyfikacja VDRL – nie wymaga inaktywacji surowicy, stosowany w diagnostyce

	VDRL	USR
antygen	kardiolipina lecytyna cholesterol	kardiolipina lecytyna cholesterol
surowica	inaktywowana termicznie 56°C/ 30 min	inaktywacja chemiczna – chlorek choliny

Odczyn wiązania dopełniacza (w modyfikacji Wassermana i Kolmera – wymagający potwierdzenia, obecnie stosowany czasami w diagnostyce PMR

B. odczyny swoiste – (krętkowe) – wykonywane z antygenami *T. pallidum*, przeciwciała (immobilizyny, aglutyniny – przeciwciała unieruchamiające krętki) powstają w odpowiedzi na antygeny cukrowe i białkowe. Odczyny te są dodatnie u większości pacjentów kile pierwotnej (2-3 tydzień od zakażenia), a u wszystkich w kile wtórnej i trzeciorzędowej

- Test immunofluorescencji – w modyfikacji absorpcyjnej (FTA-ABS, fluorescent treponemal antibody absorption test). Wykrywa przeciwciała klasy IgA, IgM i IgG skierowane przeciw antygenom białkowym krętków, które pojawiają się 7-10 dni od objawu pierwotnego. Test o najwyższej czułości. Stosowany obecnie w diagnostyce.
- Test unieruchomienia (TPI – *T. pallidum* immobilization) – test Nelsona-Mayer'a. Wykonywany z żywymi, patogennymi krętkami szczepu Nicholasa, wykrywa przeciwciała klasy IgG skierowane przeciw antygenom cukrowym krętków, które pojawiają się do 40 dni od wystąpienia objawu pierwotnego. Test o 100 % swoistości. Niestosowany obecnie w diagnostyce.
- Test hemaglutynacji biernej (TPHA – *T. pallidum* hemagglutination) – wykrywa przeciwciała klasy IgG i IgM skierowane przeciw antygenom białkowym krętków, najczulszy test w kile późnej, stosowany obecnie w diagnostyce.
- Test immunoenzymatyczny (EIA – M) wykrywa przeciwciała klasy (?) i IgM skierowane przeciw antygenom białkowym krętków – może być przygotowany jako test fazy stałej (ELISA) dla oceny ilościowej.

cel	metoda
profilaktyka	USR, VDRL (ilościowy)
diagnostyka	VDRL, FTA-ABS
kontrola, leczenie	VDRL, FTA-ABS (ilościowy)
weryfikacja	TPA, TPI (po czasie, gdy wynik niepewny)

116. Zakażenia skóry i tkanek miękkich

Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń skóry i tkanek miękkich są G(+) ziarniaki, tj. gronkowce i paciorkowce; wywołują one m. in. następujące schorzenia: liszajca, w tym liszajca pęcherzowego, niesztowicę, pęcherzykowe zapalenie skóry palców, zespół oparzonej skóry (SSSS), zapalenie mieszków włosowych, czyraki, różę oraz cellulitis.

Erysipelotrix rhusiopathiae wywołuje różycę, Actinomyces israeli – promienicę, a Propionibacterium acnes – trądzik.

Zgorzelinowe zapalenie tkanki łącznej obejmuje: zgorzel paciorkowcową (*S. pyogenes*), gazową (*C. perfringens*) oraz o etiologii mieszanej (paciorkowce, *S. aureus*).

Zakażenia grzybicze skóry są wywoływane przez dermatofity oraz *Candida* spp.

Najczęstszymi bakteriami zakażającymi rany chirurgiczne są: *Staphylococcus aureus* oraz *Staphylococcus epidermidis* (zakażenia związane z obecnością wszczepu), a także mniej istotne: *Streptococcus pyogenes*, inne paciorkowce β -hemolizujące (grupa B, C), *Enterococcus*, Gram(-) pałeczki, głównie *Enterobacteriaceae* (~40%), *Pseudomonas aeruginosa* (zakażenia powierzchniowe), beztlenowce: *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* (zakażenia głębokie; głównie po zabiegach na przewodzie pokarmowym i ginekologicznych).

Czynniki etiologicznymi zakażeń ran odleżynowych są najczęściej: pałeczkami *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., beztlenowce: *Peptostreptococcus* (odleżyny w 3 i 4 fazie).

Do czynników etiologicznych zakażeń ran oparzeniowych należą przede wszystkim: *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* (u 100% chorych, u których oparzenie obejmuje ponad 40% powierzchni ciała). W pierwszym tygodniu czynnikami zakaźnymi najczęściej są: *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus pyogenes*, a w drugim tygodniu: pałeczki *Enterobacteriaceae* (*E. coli.*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp.) oraz niefermentujące (*Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* spp.).

Diagnostyka mikrobiologiczna zakażeń skóry i tkanek miękkich

I Badanie bakteriologiczne: W celu identyfikacji czynnika etiologicznego zakażenia należy pobrać:

- ze zmian powierzchniowych: wydzielinę z rany na zwykłą wymazówkę (badanie w kierunku bakterii tlenowych),
- ze zmian głębokich: wydzielinę z rany na zestaw transportowy złożony z wymazówki i podłoża transportowego (badanie w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych).

Dodatkowo, w celu wykonania preparatu bezpośredniego należy pobrać materiał na zwykłą wymazówkę. W przypadku ciężkich zakażeń (np. po operacjach brzusznych) wskazane jest także pobranie do badania krwi.

II Badanie w kierunku grzybów. W przypadku podejrzenia zakażenia dermatofitami materiałem do badań są zeszkrobiny z obrzeża zmian pobrane do zagiętego na brzegach arkusika czarnego papieru lub jałowej próbówki; materiał można pobrać krawędzią szkiełka mikroskopowego lub tęym skalpelem.

117. Zakażenia krwi

Czynniki etiologiczne zakażeń krwi są bardzo rozmaite i różnią się w zależności od mechanizmu zakażenia:

- zakażenia odcewnikowe (40-60% zakażeń krwi): *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Candida* spp.; *Corynebacterium jeikeium*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Fusarium* spp.; zakażone płyny infuzyjne – pałeczki G(-),
- zakażenia posttransfuzyjne: HBV, HCV, HIV,
- uogólnienie zakażenia miejscowego – posocznica wtórna: *Streptococcus pneumoniae* (zapalenie płuc), *Neisseria meningitidis* (zapalenie opon mózgowych), *Enterococcus* spp. i *Enterobacteriaceae* (ZUM i zakażenia jamy brzusznej), *Staphylococcus aureus* (ropnie skórne i narządowe), *Bacteroides fragilis* (zakażenia jamy brzusznej i miednicy małej),
- zakażenia septyczne noworodków: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus agalactiae*,
- zapalenie wsierdza (endocarditis): paciorkowce, *Enterococcus*, *S. aureus* i CNS, *Candida* spp. i *Aspergillus* spp.,
- zapalenie mięśnia sercowego (miocarditis): *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Actinomyces* spp., G(-) beztlenowce (*Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp.), wirusy, grzyby (gł. *Candida*), robaki.

Krew należy pobrać:

- na podłoże hodowlane zabezpieczające wzrost bakterii tlenowych i beztlenowych (dwa oddzielne podłoża lub jedno wspólne) ogrzane do temp. 37°C,
- najlepiej ok. 30 min. przed spodziewanym szczytem gorączki,

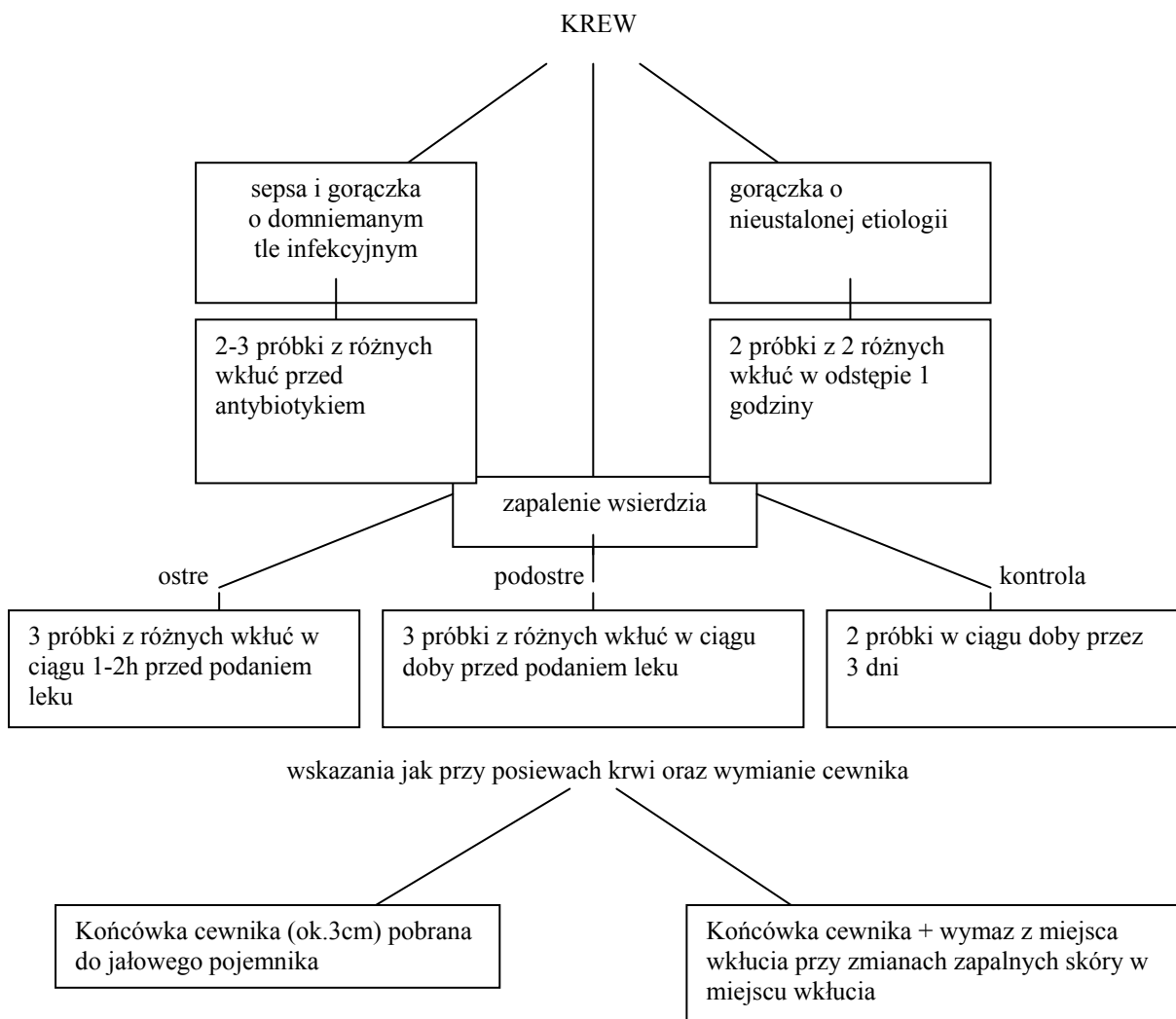
- w warunkach aseptycznych (jałowe rękawiczki, dezynfekcja miejsca wkłucia),
- z uwzględnieniem wymaganej objętości próbki.

Krew do badania mikrobiologicznego nie może być pobierana z wkłuc założonych stałych na stałe. Próbki należy chronić przed ochłodzeniem. Przy podejrzeniu zakażenia grzybiczego należy pobrać 3 próbki z różnych wkłuc pobrane co 30 min. Krew pobierana jest także w grzybiczych zakażeniach OUN, dróg oddechowych, moczowych i zakażeniach gałki ocznej.

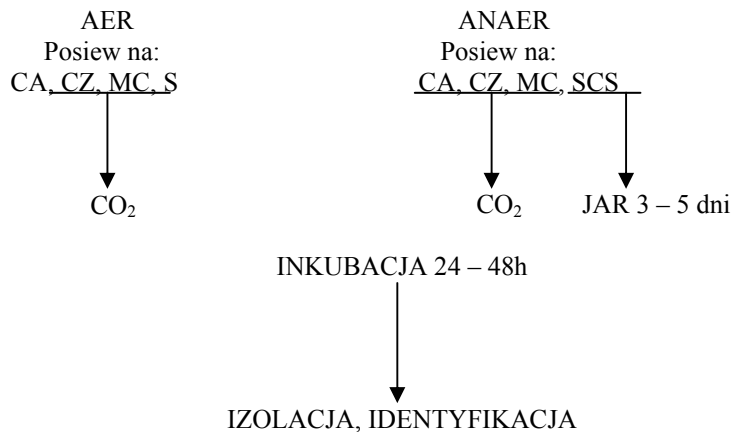
Cewniki naczyniowe – po usunięciu cewnika, podtrzymując jałową pęsetą należy odciąć jałowymi nożyczkami końcówkę (ok. 3 cm) i umieścić ją w jałowym pojemniku. W przypadku zmian zapalnych w miejscu wkłucia oprócz końcówki cewnika należy też pobrać wymaz z miejsca wkłucia.

Diagnostyka

W celu potwierdzenia rozpoznania klinicznego i określenia czynników etiologicznych zakażeń krwi należy wykonać badanie mikrobiologiczne próbek krwi, a w przypadku podejrzenia zakażenia odcewnikowego także końcówki cewnika. W zakażeniach, które mogą mieć związek z podawaniem płynów infuzyjnych należy przeprowadzić również badanie tych płynów.



POSIEW KRWI



WYNIK UJEMNY: PO 7 DNIACH INKUBACJI

CA – Columbia agar (agar z krwią)

CZ – agar czekoladowy

SCS – agar Schedlera z krwią (dla bakterii beztlenowych)

S – agar Sabourauda

MC – agar McConkeya

118. Zakażenia OUN

Czynniki etiologiczne zakażeń OUN:

- zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych:
 - ropne: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* spp., G(-) pałeczki
 - nieropne: grzybicze (*Mycobacterium tuberculosis*), inne bakteryjne (*Treponema pallidum*, *Leptospira* spp., *Borrelia* spp., *Mycoplasma* spp.), wirusowe (Coxsackie A i B, wirus polio, wirus świnki, EBV, HSV-2, VZV), grzybicze (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp), pierwotniakowe (*Toxoplasma gondii*, *Naegleria fowleri*),
 - ogólnie najczęstsze czynniki etiologiczne: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* b, *Streptococcus pneumoniae*,
 - ropień mózgu:
 - pierwotny: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., *Clostridium* spp.
 - wtórny: *Bacteroides fragilis*, *Prevotella melanogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Streptococcus* spp.

Wirusowe zakażenia OUN

- zakażenia ostre
 - zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych: Coxsackie A i B, wirus polio, wirus świnki, EBV, HSV-2, VZV,
 - nagminne porażenie dziecięce: wirus polio, enterowirus 70,
 - zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu: HSV-1, arbowirusy,
 - zespół demencji w przebiegu AIDS (HIV-1)
- ostre zespoły poekspozycyjne
 - pozakaźne i poszczepienne zapalenie mózgu i rdzenia: odra, różyczka, świnka, VZV, wścieklizna, krowianka
 - zespół Guillaina – Barrego: wirusy grypy, enterowirusy, EBV, CMV,
 - zespół Reye’a – wirus grypy B, VZV, adenowirusy
- przewlekłe zakażenia
 - podostre stwardniające zapalenie mózgu (SSPE): wirus odry, wirus różyczki
 - postępująca wieloogniskowa leukoencefalopatia (PML): papowawirusy (JC, SV – 40)

Pobieranie i przesyłanie materiałów

Materiałem pobieranym w zakażeniach OUN (zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mózgu) jest płyn mózgowo-rdzeniowy pobierany przez nakłucia lędźwiowe w warunkach aseptycznych:

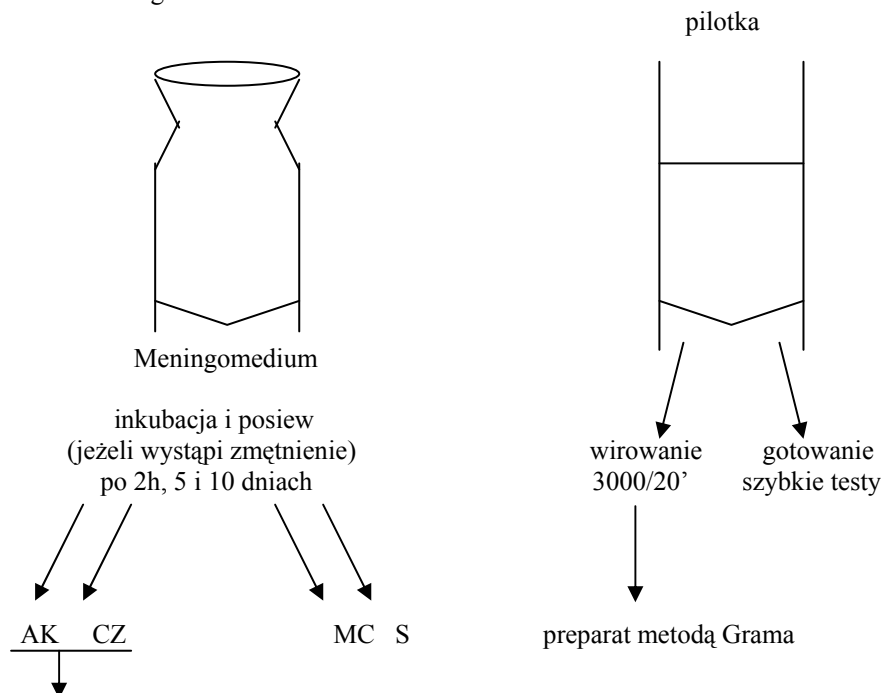
- co najmniej 1 ml płynu posiany jałową igłą bezpośrednio do podłoża hodowlanego (Meningomedium, podłoże do posiewu krwi, a w infekcjach grzybiczych podłoże Sabourauda) ogrzanego do 37°C. Pobraną

próbkę należy jak najszybciej przetransportować do laboratorium w warunkach zabezpieczających utrzymanie temperatury podłoża (termos, termo-torba)

- około 2 ml płynu pobrać do jałowej probówki lub pojemnika w celu wykonania preparatu bezpośredniego i szybkich testów w kierunku *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* i grzybów.

Infekcje OUN mogą przebiegać z bakteremią, dlatego do badania bakteriologicznego należy równolegle z płynem mózgowo-rdzeniowym pobrać krew.

Diagnostyka mikrobiologiczna:



Inkubacja w eksykatorze

IZOLACJA, IDENTYFIKACJA

AK – agar z krwią; CZ – agar czekoladowy

Jeżeli płyn jest przesłany tylko w pilotce należy wykonać posiew z osadu.

119. Zakażenia górnych dróg oddechowych

Czynniki etiologiczne zakażeń górnych dróg oddechowych:

- bakteryjne: *Streptococcus pyogenes* (gr. A, rzadziej C, G), *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Fusobacterium fusiforme* + *Borrelia vincenti* (angina Plauta – Vincenta), pałeczki *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella rhinoscleromatis*), pałeczki niefermentujące (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*), pałeczki G(-) (*Haemophilus influenzae* b – zapalenie nagłośni), *Bordetella pertussis*, pałeczki G(+) (*Listeria monocytogenes*)
- wirusowe: adenowirusy, *Influenza virus* A, B, *Parainfluenza virus* typ 1-3, *Rhinovirus*, *Enterowirusy*, *Koronawirusy*, wirus RS, EBV (mononukleozą zakaźną)
- grzybicze: *Candida albicans* i inne drożdżaki

Pobieranie i transportowanie materiałów w kierunku zakażeń górnych dróg oddechowych

Sposoby pobierania:

- Wymaz z gardła – sterylną wymazówką zwilżoną jałową solą fizjologiczną, lub wymazówką z bakteriologicznego zestawu transportowego pobrać materiał ze zmienionych zapalnie okolic tylnej ściany gardła, podniebienia lub migdałków. Nie dotykać zdrowo wyglądających śluzówek i śliny.
- Wymaz z nosogardzieli – przy podejrzeniu zakażenia szczepami *N. meningitidis*, *Haemophilus* spp., *B. pertussis*
- Pobranie przez nos – stosować wymazówkę o elastycznym trzonku.
- Pobranie przez jamę ustną – gdy nie ma możliwości pobrania przez nos.

- Przy podejrzeniu krztuśca – konieczna wymazówka z alginianem wapnia, pobieramy kilkakrotnie śluz z powierzchni nosogardzieli.
- Wymaz z nosa – przy użyciu wziernika nosowego i jałowej wymazówki. Przy podejrzeniu nosicielstwa *S. aureus* – pobrać 2 wymazy oddzielnie z każdego przedsionka nosa.
- Wymaz z krtani – stosować tylko bakteriologiczne zestawy transportowe.
- Wymaz spod nagłośni – w kierunku *Chlamydia pneumoniae*.
- Punktat z zatok – pobiera tylko laryngolog zgodnie z obowiązującymi procedurami zabiegowymi.
- Wymaz z migdałka – w kierunku anginy paciorkowcowej i anginy Plauta-Vincenta.

Przesyłanie materiałów do laboratorium

- Wymazówki z pobranym materiałem można przesłać w jałowej probówce bez podłoża transportowego, gdy materiał zostanie opracowany w laboratorium do 3 godzin od pobrania.
- Wymazówki na podłożu transportowym – możliwość przesłania do laboratorium do 72 godzin od pobrania. Do czasu dostarczenia do laboratorium przechowywać w temperaturze pokojowej.

Wykonanie badania bakteriologicznego materiałów z górnych dróg oddechowych; wstępna identyfikacja

1. Na wszystkich podłożach wykonujemy posiew redukcynny.
2. Posiew ogólny:
 - agar z krwią (AK) w kierunku G(+) i G(-) ziarniaków,
 - agar McConkeya (MC) w kierunku G(-) pałeczek
3. Posiewy ukierunkowane:
 - agar Casmana (C) z czynnikami X i V w kierunku *Haemophilus*,
 - agar Sabourauda (S) w kierunku *Candida*,
 - agar z krwią i tioglikolanem (Ktg lub Schedler) w kierunku bakterii beztlenowych (punktatu z zatok)
4. Preparat bezpośredni barwiony metodą Grama w kierunku anginy Plauta – Vincenta.

Izolacja: w przypadku wzrostu więcej niż jednego rodzaju bakterii należy wykonać posiewy izolacyjne w celu uzyskania czystych hodowli.

Identyfikacja:

- ocena morfologii kolonii na poszczególnych podłożach,
- wykonanie preparatów z hodowli (morfologia komórek),
- wykonanie testów identyfikujących gatunki.

120. Zakażenia dolnych dróg oddechowych

- Czynniki etiologiczne pozaszpitalnych zapaleń płuc:
 - noworodki – wirusy, pałeczki *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus*, *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes*,
 - niemowlęta i dzieci do 5-go roku życia – wirusy, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*,
 - dzieci powyżej 5-go roku życia i dorośli – *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*
- Czynniki etiologiczne szpitalnych zapaleń płuc:
 - pacjenci oddziałów zachowawczych – *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa*,
 - pacjenci oddziałów intensywnej terapii – *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Legionella spp.*,
 - pacjenci oddziałów pediatrycznych : wirusy RS, grypy, paragrypy,
- Czynniki etiologiczne zachłystowego zapalenia płuc:
 - pałeczki G(-) *Enterobacteriaceae* + bakterie beztlenowe

Sposoby pobierania materiałów i procedury diagnostyczne:

- plwocina (około 3 ml) – odkrztuszona rano, na czczo po uprzednim wykonaniu toalety jamy ustnej i po dokładnym wypłukaniu jej przegotowaną wodą; pacjent powinien odkrztusić plwocinę do jałowego pojemnika z szerokim otworem; w przypadku trudności z odkrztuszaniem i uzyskaniem odpowiedniej plwociny, można stosować środki wykrztuśne, nawilżanie, nebulizację mieszaniną oraz fizykoterapię klatki piersiowej (oklepywanie)
- Plwocina zawsze zawiera bakterie z górnych dróg oddechowych, dlatego ważne jest określenie przydatności próbki plwociny do badania bakteriologicznego poprzez wykonanie preparatu bezpośredniego barwionego metodą Grama (na podstawie stosunku liczby komórek nabłonkowych pochodzących z górnych dróg oddechowych i jamy ustnej, do liczby leukocytów).

- preparat mikroskopowy
- ➔ powiększenie 100x: liczba, typ i wzajemny stosunek obecnych w 10 kolejnych polach widzenia komórek (leukocyty, nabłonki)
- ➔ obiektów immersyjny 100x, powiększenie 1000x: liczba i morfologię komórek bakteryjnych.
- posiew – próbka płwociny nadająca się do posiewu i wskazująca na jej pochodzenie z dolnych dróg oddechowych powinna zawierać 25 lub więcej granulocytów i 10 lub mniej komórek nabłonkowych pod powiększeniem 100x:
płwocina → posiew i inkubacja: AK (24h), MC (14h), S (24h), CZ (18h) → izolacja i identyfikacja
- wydzielina oskrzelowa - odsysana u pacjentów zaintubowanych: wprowadzić cewnik do odsysania przez rurkę intubacyjną, zaaspirować do cewnika wydzielinę nie odsysając jej zupełnie, odciąć końcówkę cewnika (około 2-3 cm) do jałowego pojemnika,
- bronchoaspirat: po wprowadzeniu bronchofiberoskopu wydzielina pobrana za pomocą szczoteczki specjalnie osłoniętej przed zanieczyszczeniami,
- popłuczyny pęcherzykowo – oskrzelowe (BAL) – do płukania używa się najczęściej jałowego płynu Ringera, użycie jałowego roztworu soli fizjologicznej może hamować wzrost niektórych drobnoustrojów (np. *Proteus* sp.)
- aspiracja przezrtchawicza – w przypadku niemożności wykonania bronchoskopii, gdy istnieje podejrzenie o zakażenie bakteriami beztlenowymi lub podejrzenie nekrotycznego zapalenia płuc
- Posiew BAL, wydzieliny oskrzelowej, aspiratów tchawicznych:
materiał → preparat bezpośredni + posiew i inkubacja: AK (24h), MC (14h), S (24h), CZ (18h) → izolacja i identyfikacja
- biopłaty z płuca i opłucnej (ropnie) pobrać do jałowego pojemnika z małą ilością jałowej soli fizjologicznej
- płyn opłucnowy – pobiera się za pomocą punkcji, po ustaleniu poziomu płynu
- Posiew płynu opłucnowego, biopłatów z płuc i opłucnej:
materiał → preparat bezpośredni + posiew i inkubacja: AK(24h), MC (24h), S (24h), TG (48h), SCHb (24h) → izolacja i identyfikacja
- Posiew końcówek cewników z dróg oddechowych (rurki tracheotomijne, końcówki cewników do odsysania, końcówki rurek bronchoskopowych):
materiał → TSB → wytrząsanie kilka minut → [jeżeli posiew po wytrząsaniu jest dodatni, to nie wysiewamy materiału z TSB po inkubacji] → posiew i inkubacja: CA, MC, S, CZ → izolacja i identyfikacja
- krew (w około 30 % występuje bakteremia)

Pobieranie materiałów w szczególnych przypadkach:

- cienkoigłowa biopsja transtorakalna,
- transbronchialna biopsja płuc,
- śródoperacyjna biopsja tkankowa w trakcie torakotomii.

Ich zastosowanie można rozważyć kiedy mamy do czynienia z niejasnymi postępującymi procesami zapalnymi w płucach o charakterze infekcyjnym, nie mającymi połączenia z oskrzelami.

Tkanki i biopłaty należy pobrać do jałowego pojemnika z małą ilością jałowej soli fizjologicznej.

Przesyłanie materiałów do laboratorium - Wszystkie materiały powinny być przesłane do laboratorium natychmiast po pobraniu, nie później niż w ciągu 3 godzin. Jeżeli jest to niemożliwe to płwocinę przechowywać i transportować w 4°C (nie dłużej niż 24 godz.), a materiały pobrane drogą biopsji lub bronchoskopii przenieść do podłoża transportowych.

121. Diagnostyka gruźlicy

Każdy przypadek kliniczny gruźlicy musi być potwierdzony mikrobiologicznie przez wykazanie prątków w preparacie bezpośrednim i w hodowli.

Materiały do badań w gruźlicy płuc:

- płwocina – poranna, pobrana przed chemioterapią,
- płyn opłucnowy – w warunkach zdrowia jałowy,
- materiały z bronchoskopii – BAL, popłuczyny oskrzelowe
- popłuczyny żołądkowe – najlepszy materiał diagnostyczny u dzieci (połykanie płwociny)
- krew – nie nadaje się do badań w kierunku gruźlicy płuc (prątki zbyt krótko przebywają w krwioobiegu aby je wyhodować in vitro)

Gruźlica pozapłucna:

- mocz – do badania używa się całej objętości moczu (300ml), nie należy wykonywać preparatów bezpośrednich, gdyż mogą być obecne w moczu prątki saprofityczne

Płyn mózgowo-rdzeniowy i szpik kostny są pozbawione flory towarzyszącej i mogą być bezpośrednio posiewane

Diagnostyka mikrobiologiczna:

I etap – Wykonanie preparatu bezpośredniego, barwienie metodą Ziehl-Neelsena (na zimno) lub metodą Adamczyka (z oranżem akrydyny).

II etap

1. Opracowanie płwociny (homogenizacja, dekontaminacja – pozbycie się flory towarzyszącej).
Można wykonać bezpośrednie testy identyfikacyjne metodą PCR (b. drogie).
2. Hodowla 10 tygodni na podłożu Loewensteina-Jensena, Ogary, Middlebrooka.
3. Hodowle automatyczne 2 tygodnie
 - a) radioizotopowa (Bactec 460 Tb)
 - b) kolorymetryczna (MB/Bact)
 - c) fluorescencyjna (Bactec 9000)

Różnicowanie do gatunku – test niacynowy odróżnia *M. tuberculosis* od pozostałych prątków

Inne metody różnicowania:

- Sondy genetyczne Acu probe – odróżnia *M. avium*, *M. intracelulare*, *M. tuberculosis complex*, *M. kansasii*, *M. gordonae*,
- Testy identyfikacyjne kwasów mikołowych (HPLC)